Année scolaire
1950-1951

# THÈSES

N° 62

PRÉSENTÉES

## A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

**Jean BAILENGER**

LICENCIÉ ÈS SCIENCES. - PHARMACIEN.
EX-INTERNE DES HOPITAUX.
CHARGÉ DE COURS ET DES FONCTIONS DE CHEF DE TRAVAUX PRATIQUES
A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX.

**1re Thèse.** — SENSIBILITÉ DU CILIÉ « GLAUCOMA PIRIFORMIS » AUX ACIDES NUCLÉIQUES. INTÉRÊT BIOLOGIQUE.

**2e Thèse.** — DIFFÉRENCIATION CELLULAIRE.

*Soutenue le Vendredi 15 Juin 1951 devant la Commission d'examen.*

*Président* ..... M. AVEL, professeur.

*Examinateurs*... MM. SIGALAS, professeur à la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie.
BOUNHIOL, professeur.
RIBEREAU-GAYON, chargé de cours.

BORDEAUX
IMPRIMERIE E. DROUILLARD
3, PLACE DE LA VICTOIRE, 3

1952

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536508_0060

Année scolaire
1950-1951

# THÈSES

N° 62

PRÉSENTÉES

## A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

**Jean BAILENGER**

LICENCIÉ ÈS SCIENCES. - PHARMACIEN.
EX-INTERNE DES HOPITAUX.
CHARGÉ DE COURS ET DES FONCTIONS DE CHEF DE TRAVAUX PRATIQUES
A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX.

**1re Thèse.** — SENSIBILITÉ DU CILIÉ « GLAUCOMA PIRIFORMIS » AUX ACIDES NUCLÉIQUES. INTÉRÊT BIOLOGIQUE.

**2e Thèse.** — DIFFÉRENCIATION CELLULAIRE.

*Soutenue le Vendredi 15 Juin 1951 devant la Commission d'examen.*

*Président* ..... M. AVEL, professeur.

*Examinateurs...* MM. SIGALAS, professeur à la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie.
BOUNHIOL, professeur,
RIBEREAU-GAYON, chargé de cours.

BORDEAUX
IMPRIMERIE E. DROUILLARD
3, PLACE DE LA VICTOIRE, 3

1952

# UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

# FACULTÉ DES SCIENCES

MM.

*Doyen* ..... BRUS

*Doyens honoraires*..
- PADÉ ..... Recteur honoraire de l'Académie d'Aix.
- PICART ..... Membre de l'Institut.
- DUPONT ..... Directeur de l'Ecole Normale supérieure.
- CHAINE
- MERCIER

*Professeurs honoraires* .....
- PADÉ ..... Recteur honoraire de l'Académie d'Aix.
- BOUNHIOL
- DEVAUX ..... Membre de l'Institut.
- DUPONT ..... Directeur de l'Ecole Normale supérieure.
- PICART ..... Membre de l'Institut.
- DAURE ..... Recteur de l'Académie de Caen.
- CHAINE
- KASTLER ..... Professeur à la Sorbonne.
- QUELET..... Professeur à la Sorbonne.

*Professeurs* .....
- MERCIER..... Radio-électricité.
- MILLOUX..... Calcul infinitésimal.
- DANGEARD..... Botanique.
- GÉNEVOIS..... Chimie biologique et Physiologie végétale.
- CAU..... Physique expérimentale.
- BRUS..... Chimie.
- AVEL..... Zoologie et Physiologie animale.
- ROUSSET..... Physique générale.
- ROGER..... Mécanique rationnelle.
- WEILL..... Anatomie comparée et Embryogénie.
- SERVANT..... Physique.
- DUFRESNOY..... Mathématiques générales.
- BOUNHIOL..... Biologie animale.
- PISOT..... Calcul des probabilités.
- GAY..... Minéralogie.
- CALAS..... Chimie organique.
- LAMARE..... Géologie.
- PACAULT..... Chimie minérale et Chimie physique.

*Professeurs sans chaire*.....
- DAVID..... Biologie végétale.
- SCHOELLER..... Géologie.
- ALLARD..... Chimie.
- GUIZONNIER..... Physique.

*Maîtres de conférences honoraires.*
- ARRIVAUT
- DE PUYMALY

*Maîtres de conférences* .....
- PATY..... Chimie.
- COLMEZ..... Mathématiques.
- MALVESIN-FABRE. Botanique.
- CAMBAR..... Biologie générale.

*Chargé de suppl*ᵉ*...*
- RIBEREAU-GAYON Chimie biologique et Physiologie végétale.

*Secrétaire* ..... ARTIGUELONG

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

# SENSIBILITÉ DU CILIÉ « GLAUCOMA PIRIFORMIS » AUX ACIDES NUCLÉIQUES

## INTÉRÊT BIOLOGIQUE

# INTRODUCTION

L'intérêt que notre Maître, M. le Professeur R. Sigalas, a fait naître en nous pour les protozoaires, nous conduisit à lire les monographies de A. Lwoff et de M. Lwoff sur la nutrition de ces organismes. L'importance de premier plan donnée actuellement aux acides nucléiques en biochimie, tant physiologique que pathologique, nous fit envisager la possibilité de leur influence sur le métabolisme des organismes unicellulaires.

L'intervention des sels minéraux, amino-acides, vitamines, dans la vie des protozoaires, a fait l'objet de nombreuses publications. Mais, n'ayant trouvé que peu de travaux relatifs à la question acides nucléiques et protozoaires, ce sujet nous paraît digne de recherches.

La souche du Cilié *Glaucoma piriformis*, que A. Lwoff avait remise au laboratoire, présente des qualités qui justifient son choix pour cette étude : culture aisée sur milieu défini et bactériologiquement pur, organisme volumineux, dont la physiologie est relativement bien connue.

Nous nous sommes proposé d'étudier la réponse de *Glaucoma piriformis* à l'addition isolée ou simultanée de quantités variables d'acide ribonucléique et désoxyribonucléique à un milieu témoin. Pour atteindre ce but, il est nécessaire de bien connaître notre matériel expérimental : *Glaucoma piriformis*, d'une part, acides nucléiques, d'autre part, et de mettre au point des méthodes permettant l'étude du problème que nous nous somme posé.

Ces différentes parties feront l'objet de ce travail, qui va donc présenter le plan suivant :

## PREMIÈRE PARTIE

### Notions fondamentales sur le Cilié « Glaucoma piriformis ».

Chapitre premier. — Place dans la classification systématique, et nomenclature.

I. — Classification.

II. — Nomenclature.

Chapitre II. — Particularités anatomiques de « Glaucoma piriformis ».

I. — Système argentophile et infraciliature.
II. — Système mitochondrial.
III. — Variétés morphologiques.

Chapitre III. — Biologie.

I. — Mode de vie.
II. — Facteurs de nutrition.
*a)* Principaux facteurs de croissance.
*b)* Principaux facteurs stimulants.
*c)* Principaux facteurs inhibiteurs.
III. — Milieux de culture.

Conclusions de la première partie.

## DEUXIÈME PARTIE

**Notions fondamentales sur les acides nucléiques.**

Chapitre premier. — Chimie.

Chapitre II. — Localisation cellulaire.

I. — Historique.
II. — Méthodes.
*a)* Réaction de Feulgen.
*b)* Technique de Caspersson.
*c)* Technique de Brachet.
III. — Résultats.
*a)* Localisation de l'acide ribonucléique.
*b)* Localisation de l'acide désoxyribonucléique.

Chapitre III. — Répartition phyllogénétique.

I. — Vertébrés et invertébrés.
II. — Protistes.
III. — Bactéries.
IV. — Rickettsies.
V. — Virus.

Chapitre IV. — Ontogenèse.

Chapitre V. — Physiologie.

I. — Acide ribonucléique.
*a)* Pouvoir inducteur.
*b)* Rôle de protection.
*c)* Rôle dans la synthèse des protéines.
II. — Acide désoxyribonucléique.
*a)* Rôle dans les phénomènes d'hérédité.

Conclusions de la deuxième partie.

## TROISIÈME PARTIE

**Influence des acides nucléiques sur le développement de « Glaucoma piriformis ». (Etude expérimentale.)**

Chapitre I. — Evaluation de la croissance de « Glaucoma piriformis ».

I. — Tests de croissance des micro-organismes.
*a)* Bactéries.
*b)* *Glaucoma piriformis.*

II. — Valeur des tests de croissance couramment utilisés.
*a)* Rapport entre l'indice turbidimétrique et la numération.
*b)* Inconvénients de l'opacimétrie.

III. — Nécessité de définir un test de croissance.
*a)* Test de croissance individuelle.
*b)* Test de croissance collective.

IV. — Pratique de la détermination des coefficients de croissance définis.
*a)* Prélèvement de la culture.
*b)* Numération et mensuration des Ciliés.

V. — Valeur des coefficients de croissance définis.
*a)* Variations comparées des coefficients « de croissance collective et individuelle », aux indices turbidimétriques.
*b)* Variations des « coefficients de croissance collective et individuelle » sur différents milieux.
1° Milieu à base de peptone.
2° Milieu à base de cervelle.
3° Milieu à base de placenta.
4° Discussion.

Conclusions du chapitre premier.

Chapitre II. — Caractérisation de la nature des acides nucléiques employés.

I. — Identification de l'acide désoxyribonucléique par la réaction de Dische.

II. — Identification de l'acide ribonucléique par notre méthode personnelle.
*a)* Hydrolyse. — Concentration. — Dessiccation.

*b)* Réaction colorée de Partridge.
*c)* Résultats.

Conclusions du chapitre II.

Chapitre III. — Influence des acides nucléiques sur la croissance des cultures de « Glaucoma piriformis ».

I. — Acide ribonucléique.
II. — Acide désoxyribonucléique.
III. — Action simultanée de l'acide ribonucléique et désoxyribonucléique.

Conclusions du chapitre III.

Chapitre IV. — Interprétation des modalités d'action des acides nucléiques sur le développement de « Glaucoma piriformis ».

I. — Facteurs en rapport avec la préparation des milieux.
*a)* Hydrolyse des acides nucléiques.
*b)* Valeur du pH et du rH du milieu.
II. — Intervention des acides nucléiques en tant que facteurs chimiques.
III. — Intervention des acides nucléiques en tant que facteurs métaboliques.
*a)* Intervention expérimentale.
1° Absence d'action.
2° Action excitante.
3° Action inhibitrice.
*b)* Intervention pathologique.
*c)* Notion d'équilibre métabolique.
*d)* Notion de déséquilibre ribo-désoxyribonucléique.

Conclusions du chapitre IV.

Chapitre V. — Applications biologiques de la sensibilité de « Glaucoma piriformis » aux acides nucléiques.

I. — Dosage biologique des acides nucléiques.
*a)* Acide ribonucléique.
*b)* Acide désoxyribonucléique.
II. — Diagnostic biologique d'un déséquilibre ribo-désoxyribonucléique.

Conclusions du chapitre V.

Conclusions.

Je suis heureux de profiter de l'occasion qui m'est offerte, pour rendre hommage, au début de ce travail, à ceux qui sont à l'origine de sa réalisation.

La fréquentation des cours de Zoologie et de Biologie générale m'a permis de connaître M. le Professeur Avel qui, par la simplicité et la précision de son exposé, m'a fait goûter l'aspect biologique de la zoologie. Je tiens à le remercier de cette formation scientifique qu'il sait donner à ses élèves. Lorsque je lui ai demandé d'être mon Président de thèse, il m'a accueilli très aimablement et n'a pas hésité à consacrer beaucoup de son temps pour discuter de ce travail. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de mes respectueux sentiments.

Je désire exprimer ma profonde reconnaissance à M. le Professeur Sigalas. C'est dans son laboratoire et sous son impulsion que j'ai acquis le goût du travail. Il m'a en effet procuré les moyens d'un travail agréable, s'est intéressé avec bienveillance à mes recherches, m'indiquant le bénéfice qu'il y aurait à s'orienter dans une voie plutôt que dans une autre, sans jamais, toutefois, imposer sa volonté. M. le Professeur Sigalas, en me permettant d'entrer dans son Service, et en m'associant à son enseignement, m'a fait contracter à son égard une immense dette de reconnaissance, et je tiens à l'assurer de ma profonde gratitude et de mon respectueux dévouement.

M. le Professeur agrégé Pautrizel n'a jamais refusé de réfléchir aux difficultés que j'ai éprouvées, et m'a toujours permis de les surmonter, grâce à l'abondance et à l'originalité de ses idées, ainsi qu'à la valeur de ses conseils. Je le prie d'accepter l'expression de mon amicale et profonde reconnaissance.

M. le Professeur agrégé Masquelier m'a bien souvent fait bénéficier de ses connaissances pratiques et théoriques, et je le remercie très vivement.

Mes remerciements vont également à M. le Professeur Lwoff, qui m'a remis la souche de *Glaucoma piriformis* dont je me suis servi, et m'a fait profiter de son importante bibliographie. Je tiens à lui adresser mon respectueux souvenir.

Je n'oublierai pas non plus d'associer à cet hommage mes Maîtres de la Faculté de Médecine et de Pharmacie, ainsi que mes camarades qui n'ont cessé de me prodiguer leurs conseils et leurs encouragements.

# PREMIÈRE PARTIE

## NOTIONS FONDAMENTALES SUR LE CILIÉ «GLAUCOMA PIRIFORMIS»

# CHAPITRE PREMIER

## PLACE DANS LA CLASSIFICATION SYSTÉMATIQUE ET NOMENCLATURE

### I. — CLASSIFICATION

*Glaucoma piriformis* appartient au groupe des Protozoaires, dans le sens où A. Lwoff les a définis : « Protistes eucaryotes dépourvus de plaste et de chlorophylle » [134].

Sa place dans le groupe des Protozoaires a nettement été précisée par Faure-Fremiet, en 1950 [88], en tenant compte de l'étude de l'appareil nucléaire et de la morphologie comparée du système ciliaire, cette dernière étant rendue possible grâce aux travaux de Chatton et Lwoff [58] sur la technique d'imprégnation argentique.

Sur cette base de classification, Faure-Fremiet distingue deux classes :

Les Opalinides ou *Protociliata* de Kahl (1935), groupe mal déterminé, à affinités possibles avec les Flagellés hypermastigines.

Les Ciliés proprement dits ou *Euciliata*, caractérisés :

— 1° par un appareil nucléaire à deux éléments, le micronucléus, se divisant par mitose et subissant, lors des phénomènes de sexualité, des divisions réductrices, et le macronucléus, se divisant par amitose et se reconstituant après dégénérescence à partir d'un micronucléus;

— 2° par un appareil ciliaire parfaitement étudié par Chatton, A. Lwoff et M. Lwoff [60] qui le décrivent comme constitué par des cils présentant à leur base, des corps, « blépharoplastes », rangés sur des stries, « stries ciliaires ». Ces blépharoplastes sont tous disposés à gauche de la strie ciliaire à laquelle ils appartiennent (la gauche étant définie

comme celle d'un observateur couché sur la strie, orienté comme le Cilié, et face à l'extérieur). Cette loi d'orientation est la « loi de la desmodexie » de Chatton et Lwoff [59].

Chaque blépharoplaste se compose de deux éléments de nature très différente : 1° un granule éminemment argentophile, stable, qui se multiplie par bipartition. C'est le « granule infraciliaire » dont l'ensemble constitue « l'infraciliature »; 2° un granule moins argentophile que le précédent, formé par celui-ci lors de la poussée du cil et disparaissant avec ce dernier, lors des remaniements cytologiques consécutifs à la division. C'est le « corpuscule ciliaire ».

L'ensemble cil, granule infraciliaire, corpuscule ciliaire, constitue une « cinétie ».

Au cours de la bipartition, le système des cinéties subit une division transversale permettant l'identité structurale des deux individus fils.

La classe des *Euciliata*, ainsi définie, est divisée par Faure-Fremiet en deux sous-classes : *Holotricha* et *Spirotricha*.

Le genre *Glaucoma* se range dans le groupe des Holotriches, caractérisé par une ciliature adorale faite de cils simples. Il comprend lui-même un certain nombre d'ordres, et en particulier celui des Hyménostomes, lequel est pourvu de membranelles vibratiles prébuccales qui peuvent être disposées selon trois types distincts : l'un d'eux, dit « Tétrahyménien », est caractérisé par une membrane vibratile parorale droite et trois membranes adorales gauches. Ce type est celui auquel appartient le genre *Glaucoma*, dont la systématique peut ainsi se résumer :

Protozoaire, Euciliata, Holotricha, Hyménostome, Tétrahyménien.

## II. — NOMENCLATURE

Nous n'avons jusqu'ici utilisé que l'appellation de genre *Glaucoma*, mais ce n'est pas la seule à être attribuée à l'organisme que nous étudions.

La nomenclature présente une synonymie dont on doit tenir compte pour aborder une étude bibliographique, mais qui ne gêne en rien la classification systématique, les genres décrits étant très voisins.

En 1838, Ehrenberg [82] décrit un infusoire cilié sous le nom de *Leucophrys piriformis*. Maupas le classe ultérieurement dans le genre *Glaucoma*, de « par sa forme générale, la

structure de sa bouche, le mode de préhension de la nourriture, la position du nucléus et de la vacuole contractile ».

A cette synonymie, *Leucophrys, Glaucoma piriformis,* Furgason [98] propose d'en ajouter une autre : *Tetrahymena geleii.*

*Leucophrys piriformis* est très rarement employé.

*Tetrahymena geleii* est utilisé par les Américains du Nord, et notamment par l'école de Kidder.

*Glaucoma piriformis* est l'appellation dont Chatton et Lwoff se sont servis, et c'est elle que nous adopterons.

# CHAPITRE II

## PARTICULARITÉS ANATOMIQUES DE « GLAUCOMA PIRIFORMIS »

A l'étude morphologique de *Glaucoma piriformis* s'attachent les travaux de Maupas [142], Faure-Fremiet [85 et 86], Chatton et Brachon [57], Chatton et Lwoff [60], pour ne citer que les principaux.

Nous rappellerons les résultats de ces travaux, en insistant sur les particularités portant :

1° Sur le système argentophile et l'infraciliature;

2° Sur le système mitochondrial;

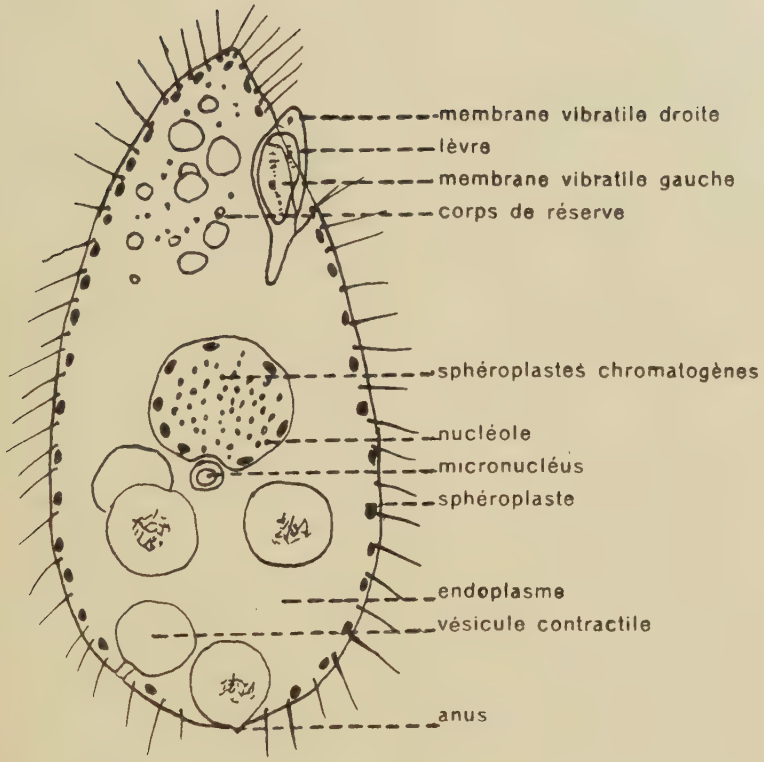
3° Sur les variétés morphologiques.

Maupas décrit *Glaucoma piriformis* comme un corps présentant la forme d'une navette munie de neuf à dix stries ciliaires et munie à la partie antérieure d'une fossette buccale pourvue d'un système de membranes vibratiles formées par agglutination de cils. L'intérêt cytologique de cet organisme, dont nous avons donné les grandes lignes de l'organisation au paragraphe précédent, réside dans les trois particularités citées, et que nous allons envisager.

### I. — ÉTUDE DU SYSTÈME ARGENTOPHILE ET DE L'INFRACILIATURE

Chatton et Brachon *(loc. cit.)* ont montré que *Glaucoma piriformis* présente deux systèmes superficiels distincts, que l'ont met en évidence par des techniques différentes :

Un système mis en évidence par fixation au Champy et coloration au fer, sous forme de stries méridiennes rectilignes, à la gauche desquelles sont rangées les blépharoplastes. Ce système discontinu topographiquement (absence d'anastomose, discontinuité aux pôles) est l'infraciliature.




Coupe optique schématique de « Glaucoma piriformis »
(D'après Faure-Fremiet [85])

Un système mis en évidence par imprégnation argentique, sous forme d'un cordon sinueux, ondulant le long des stries ciliaires et reliant les blépharoplastes en passant à leur gauche ou à leur droite, et constituant par anastomose, à leur gauche, des « interstries ou, mieux, des pseudostries ». Ce système, que Chatton et Brachon désignent du terme « argentophile », s'anastomose aux pôles avec les stries ciliaires qui rentrent ainsi dans un réseau continu.

Klein avait observé, au niveau des interstries, des granules hyper-argentophiles, qu'il considère comme des « protrichocystes » que Chatton et Lwoff *(loc. cit.)* interprètent comme des « granules infraciliaires erratiques ».

I. — Infraciliature.

« Fils, granules infraciliaires dont quelques-uns en division, cils, mitochondries ectoplasmiques (Champy-fer). »

II. — Système argentophile.

« Cordons, festons, pseudostries, blépharoplastes (granule infraciliaire + corpuscule ciliaire) (argent). »

INFRACILIATURE ET SYSTÈME ARGENTOPHILE DU CILIÉ « GLAUCOMA PIRIFORMIS ».
(D'après E. CHATTON et S. BRACHON [57])

## II. — ÉTUDE DU SYSTÈME MITOCHONDRIAL

FAURE-FREMIET [86] montre que le chondriome comporte des mitochondries endoplasmiques peu nombreuses, dispersées au hasard, et des mitochondries ectoplasmiques « alignées dans le prolongement l'une de l'autre, formant une file régulière entre chaque ligne d'implantation des cils vibratiles ». Les mitochondries proches des stries ciliaires sont situées à leur gauche et s'insèrent chacune sur un blépharoplaste, par une simple effilure, et se scindent en même temps qu'eux. Ces mitochondries sont en général de forme allongée (longueur : 2 à 4 ou 5 $\mu$; largeur : inférieure à 1 $\mu$). Elles peuvent se fragmenter en sphérules qui envahissent alors tout le cytoplasme. L'auteur signale un gonflement spontané ou expérimental des mitochondries, comme étant à l'origine d'une « structure alvéolaire ».

## III. — VARIABILITÉ MORPHOLOGIQUE

Cette variabilité a une telle importance que Ehrenberg *(loc. cit.)* décrit trois espèces : *Trichoda pura, Leucophrys piriformis, Leucophrys carnium* qui, d'après Maupas *(loc. cit.)*, « par leur taille, par leur forme, sont incontestablement identiques avec cet infusoire » *(Glaucoma piriformis)*. Cet auteur dit encore : *Trichoda pura* « correspond aux individus de petite taille qui vivent dans les vieilles infusions pauvres en nourriture; les deux *Leucophrys* rappellent parfaitement les individus bien nourris ». Si nous avons insisté sur cette variabilité, c'est que nous trouvons dans ces travaux un phénomène que l'observation de nos cultures nous rappellera : diminution de la taille dans une culture sénescente.

# CHAPITRE III

## BIOLOGIE

### I. — MODE DE VIE

*Glaucoma piriformis* est un Cilié à vie libre, mais qui peut, dans certains cas, se comporter en parasite capable de déterminer la mort de son hôte : Theillard et Lwoff [196] signalent un parasitisme mortel des larves de *Chironomus plumosus;* Lwoff [131] reproduit expérimentalement une infection mortelle chez la larve de *Galleria melonella*. D'autres cas semblent avoir été mentionnés sans certitude de l'identité du Cilié en cause. C'est pourquoi nous ne nous y référerons pas.

Une deuxième particularité biologique est représentée par le mode de nutrition, qui semble indifféremment se faire par phagocytose ou par osmose. Cette indifférence a permis à Lwoff, en 1923, d'isoler le Cilié en culture bactériologiquement pure.

Il est, en outre, très intéressant de signaler le phénomène d'aérobiose; *Glaucoma piriformis* est aérobie strict, et toute tentative de culture en l'absence d'oxygène est vouée à un échec : absence de multiplication. Cette propriété a pour conséquence la condensation des Ciliés à la surface des milieux de culture, où ils forment une couche détruite par agitation, mais qui se reconstitue très rapidement. Nous devrons tenir compte de cela dans notre travail expérimental.

En tenant compte de ces remarques relatives aux modalités nutritives et respiratoires, des milieux d'entretien ont pu être définis et ont permis la détermination des facteurs de nutrition.

### II. — FACTEURS DE NUTRITION

Parmi les substances entrant dans la composition d'un milieu de culture, Lwoff [132] distingue les facteurs de croissance et les facteurs stimulants.

Un « facteur de croissance pour un organisme donné est une substance dont cet organisme est capable de réaliser la synthèse, et en l'absence de laquelle toute multiplication de cet organisme est impossible ». On appelle « facteur stimulant une substance qui n'est pas indispensable, en l'absence de laquelle l'organisme peut se développer, mais qui accélère plus ou moins la croissance ». Corrélativement à ces facteurs, on peut définir des inhibiteurs de croissance qui interfèrent dans l'utilisation des précédents.

### A. — Principaux facteurs de croissance

Lwoff [134] ayant isolé *Glaucoma piriformis* à l'état bactériologiquement pur, a pu en étudier les facteurs de croissance. Il a notamment montré que la culture était possible sur un milieu exclusivement à base de peptone (peptone de Whitte ou de caséine) et en l'absence d'une source carbonée indépendante. La source carbonée dont a besoin *Glaucoma piriformis* peut donc être une source azotée. Ce caractère est celui que Lwoff dénomme « haplotrophe ». Relativement à la source azotée, cet auteur conclut de ses travaux la nécessité de polypeptides complexes. En réalité, ce besoin de peptides, qui est celui des « métatrophes », ne constitue qu'une hypothèse émise par Lwoff, hypothèse qui ne l'empêche cependant pas de supposer « que les besoins des protistes hétérotrophes vrais, du type physiologique *Glaucoma piriformis*, doivent se rapprocher beaucoup de ceux des Mammifères, et qu'en particulier, les acides aminés indispensables pour les Mammifères le sont également pour le Glaucome ». Cette supposition est confirmée par l'école de Kidder qui, dans une série d'articles dont nous ne citons que ceux que nous avons pu nous procurer [119, 120, 121], montre que les dix amino-acides nécessaires aux Mammifères (Rose [173]) permettent la culture de *Glaucoma*, à condition d'être complétés par un facteur que les auteurs appellent « facteur II », et qui est retiré du Cérophyl, de la luzerne, ainsi que des différents tissus animaux, notamment du foie. Parmi ces dix amino-acides : histidine (l +), isoleucine (dl), leucine (l —), lysine (dl), thréonine (dl), valine (dl), phénylalanine (dl), méthionine (dl), tryptophane (l —), arginine (l +), ce dernier est synthétisé par le Cilié, de telle sorte qu'en son absence un certain degré de croissance est possible, mais la vitesse de synthèse est en dessous de l'optimum. L'aptitude à synthétiser l'arginine correspond à celle du jeune rat. Cette ressemblance entre *Glaucoma* et les

*Mammifères* n'est d'ailleurs pas la seule; il faut signaler la possibilité de méthylation de l'homocystine en méthionine en l'absence d'une source méthylée (choline ou bétaïne), grâce à un ou à des facteurs hépatiques non identifiés. Cette synthèse a été démontrée chez *Glaucoma* par Kidder et Dewey (*loc. cit.*), et chez les Mammifères par du Vigneaud, Moyer, Toennies, Bennet et leurs collaborateurs [207, 155, 194, 8]. Dans ces conditions, du point de vue de la nutrition azotée, la place que Lwoff avait attribuée, en 1932, à *Glaucoma*, dans le groupe des « métatrophes », ne correspond pas à la réalité; il s'agit plutôt d'un « mésotrophe », au sens où Lwoff les définit « organismes capables de faire la synthèse de leurs protides à partir de l'ammoniaque et ayant besoin d'un composé organique; la source azotée peut être représentée par des composés azotés minéraux ou organiques simples (nitrates, sels d'ammonium ou acides aminés) ».

La source azotée et organique doit être complétée par des facteurs dont le mieux étudié est l'aneurine ou vitamine $B_1$. Le besoin en a été établi par Lwoff qui montre qu'à une concentration inférieure à $1 \times 10^{-9}$, il y a survie, sans multiplication [137]. *Glaucoma piriformis* ne peut, en outre, en effectuer la synthèse, à partir de la pyrimidine et du thiazol [136]. Son importance est telle que Lwoff, en collaboration avec Emerique-Blum [83] établissent un dosage biologique de la vitamine $B_1$, montrant que la proportionnalité est exacte de 1 à $4 \times 10^{-10}$ et de 6 à $8 \times 10^{-10}$, entre le nombre d'éléments par millimètre cube et la concentration en aneurine du milieu.

La possibilité de synthétiser certaines purines a été étudiée, notamment par l'école de Kidder qui montre les besoins en uracile et en guanine du Cilié. Celui-ci ne peut d'ailleurs pas synthétiser la guanine à partir de l'adénine.

### B. — Principaux facteurs stimulants

L'action stimulante de différents tissus a été signalée sans pouvoir en isoler les facteurs.

Milkovitch [146] accélère la multiplication de *Glaucoma piriformis* en ajoutant à un milieu exclusif de peptone du sérum humain, et obtient en outre des individus de taille supérieure à la normale.

L'action des extraits d'organes, et notamment des extraits thyroïdiens, a fait l'objet de nombreuses études sur les Ciliés : Nowikoff [158], Schunway [179, 180], Budington et Harvey [35], Abderhalden et Schiffmann [1], Cori [66]

concluent à l'influence favorisante des préparations thyroïdiennes sur le degré de division des Ciliés (cultures faites en présence de bactéries). Lwoff [133], reprenant l'étude de l'influence d'extraits de dix organes différents, frais et chauffés vingt minutes à 120°, sur sa culture pure de *Glaucoma piriformis*, conclut à une action favorisante qu'il attribue, en reprenant les conclusions de Woodruff et Swingle [213], à l'apport de matériaux nutritifs, sans éliminer toutefois l'hypothèse d'un principe actif.

L'iodothyrine et la thyroxine, étudiées dans les mêmes conditions par Schumway *(loc. cit.)*, Cori [66] et Riddle et Torey [166], se montrent peu ou pas actives ou même diminuent la vitesse de multiplication (Woodruff et Swingle) *(loc. cit.)*.

De ces recherches sur milieu complexe, on peut conclure à une action favorisante, sans toutefois pouvoir affirmer qu'un facteur stimulant en soit la cause, la stimulation n'étant peut-être due qu'à un apport supplémentaire de facteurs de nutrition.

Kidder et Dewey *(loc. cit.)*, au contraire, grâce au milieu parfaitement défini qu'ils ont mis au point, montrent l'action stimulante de la dl sérine qui, à la concentration de 4 mg. p. 100, détermine une augmentation numérique intense.

### C. — Principaux facteurs inhibiteurs

Kidder et Dewey [121] signalent une action particulièrement intense du « Guanazolo » (5 amino, 7 hydroxy, 1 HV triazolo [d] pyrimidine). Le « diamino azolo » (dérivé 5-7 aminé) est moins actif.

Dans cet ordre d'idées, une étude intéressante a été faite par Molho et Lacroix [154] sur le comportement de *Glaucoma piriformis*, en présence de quinones, soit à propriété vitaminique K (méthyl-naphto-quinone), soit à propriété antivitaminique K (méthoxy-naphto-quinone et chloro-naphto-quinone). Selon les auteurs, l'activité dépend de la concentration et de la phase de croissance. Les deux antivitaminiques K, à la concentration $3 \times 10^{-6}$, ont une action inhibitrice, quelle que soit la phase du développement cellulaire; mais à la concentration $1 \times 10^{-6}$, et la méthyl-naphto-quinone à la concentration $1 \times 10^{-7}$ possèdent une action stimulante pendant la phase de multiplication active, et une action inhibitrice pendant la phase de stabilité. La méthoxy 2 naphtoquinone 1 — 4 et la chloro 2 naphtoquinone 1 — 4 à la

concentration $5 \times 10^{-6}$ ne permettent pas la croissance du Cilié.

Ces besoins nutritifs qui, par certains côtés, se rapprochent de ceux des Mammifères, étant établis, les auteurs ont indiqué des milieux de culture.

## III. — MILIEUX DE CULTURE

Lwoff, le premier, met au point un milieu relativement complexe :

| | |
|---|---|
| Peptone de Witte ou de caséine ..... | 10 » g. |
| ClNa ..... | 0,5 g. |
| $Cl_2Ca$ ..... | 0,02 g. |
| $PO_4HNa_2$ ..... | 0,02 g. |
| ClK ..... | 0,01 g. |
| $SO_4Mg$ ..... | 0,01 g. |
| Eau distillée ..... Q. S. | 1.000 $cm^3$ |

Il lui substitue, avec d'excellents résultats, un milieu peptoné très simple :

| | |
|---|---|
| Peptone ..... | 10 g. |
| ClNa ..... | 4 g. |
| Eau bidistillée ..... | 1.000 $cm^3$ |
| Soude ..... Q. S. Ph. | 7,00 |

L'auteur précise que la peptone est, soit la peptone de Witte, soit une peptone de caséine, soit de la peptone de Chapoteaut (peptone pepsique de muscle), soit les différentes peptones Vaillant : peptone pepsique de muscle de bœuf (P. B. C.), peptone pancréatique de muscle de bœuf (5 C), peptone pepsique d'arachide. La culture se fait dans d'aussi bonnes conditions si la peptone est délipidée à l'éther.

Ce milieu de Lwoff n'est pas parfaitement défini, les peptones commerciales étant de composition complexe. Il a pour avantage la simplicité de sa préparation et, dans la pratique, constitue un milieu d'entretien commode.

En opposition, Kidder et Dewey ont donné la formule d'un milieu complexe, mais entièrement synthétique, et que nous reproduisons :

| | mg. p. 100 | | γ p. 100 |
|---|---|---|---|
| l Arginine ..... | 20 | Méthylbiotine ..... | 0,005 |
| l Histidine ..... | 10 | Panthoténate de Ca.... | 10,00 |
| dl Isoleucine ..... | 35 | Acide nicotinique ..... | 10,00 |

| | | | |
|---|---|---|---|
| l Leucine | 35 | Inositol | 100,00 |
| l Lysine | 60 | Choline | 100,00 |
| dl Méthionine | 34 | Ac. paraminobenzoïque. | 10,00 |
| dl Phénylalanine | 14 | Chl. de pyridoxine | 10,00 |
| dl Thréonine | 20 | Ac. folique concentré | 0,10 |
| l Tryptophane | 10 | Riboflavine | 10,00 |
| dl Valine | 20 | Chl. de Thiamine | 10,00 |
| dl Sérine | 4 | | |

| | mg. p. 100 |
|---|---|
| $SO_4Mg$, 7 $H_2O$ | 10,00 |
| $PO_4HK_2$ | 10,00 |
| $Cl_2Ca$, 2 $H_2O$ | 5,00 |
| $Cl_3Fe$, 6 $H_2O$ | 0,125 |
| $Cl_2Mn$, 4 $H_2O$ | 0,005 |
| $Cl_2Zn$ | 0,005 |
| Dextrose | 100 |
| Eau bidistillée | 100 cm³ |

A neuf parties de cette solution, on ajoute une partie d'une solution d'un « facteur II », facteur de croissance inconnu, retiré de sources variées, notamment : foie, cérophyl (poudre de feuilles desséchées de plantules de céréales, préparée par les Cerophyl Laboratories Inc. Kansas City, Missouri).

Le milieu préparé est ajusté à pH 6,8, 6,9 et stérilisé dix minutes sous une pression de 1,5 atmosphère.

L'eau peptonée de Lwoff et le milieu synthétique de Kidder sont, avant tout, des milieux d'étude qui ont l'inconvénient de nécessiter des repiquages fréquents : tous les quinze à vingt jours. En vue d'une conservation, il est intéressant d'avoir à sa disposition des milieux permettant une longue survie des Ciliés, et tels que les réensemencements pourront être espacés sans crainte d'altérer les souches.

Chatton, en 1918 [54, 55, 56], conclut à la possibilité de cultiver les Trichomastix à l'état pur, aux dépens de tissus coagulés (foie, rate, rein) par stérilisation à 120°. Zotta [232, 233], montre que la culture de *Leptomonas pyrrhocoris* a lieu avec d'excellents résultats sur milieux obtenus à partir de fragments d'organes (foie, rate, rein, cervelle) stérilisés à l'autoclave dans un soluté isotonique de chlorure de sodium. De même, Lwoff a pu cultiver *Glaucoma piriformis* sur milieux aux organes stérilisés. Les cultures se maintiennent plus d'un an, et un seul repiquage annuel est suffisant.

## CONCLUSIONS DE LA PREMIÈRE PARTIE

Le Cilié holotriche, *Glaucoma piriformis,* est caractérisé anatomiquement par son système ciliaire et mitochondrial. Sa croissance n'est possible qu'en aérobiose et nécessite une source azotée organique simple, représentée par les amino-acides indispensables aux Mammifères. Ce caractère le range parmi les Haplomésotrophes de Lwoff. Sa multiplication est favorisée ou inhibée par différents facteurs souvent indéterminés. La connaissance du mode de nutrition de ce Cilié permet d'en définir des milieux de culture indispensables pour une étude physiologique.

La manipulation aisée de *Glaucoma piriformis,* jointe aux particularités énoncées, lui confère un réel intérêt expérimental que semble résumer cette conclusion de Maupas [143] : Les infusoires « deviendront l'objet de recherches et d'expériences qui contribueront puissamment et rapidement au progrès de la physiologie et de la biologie générale ».

# DEUXIÈME PARTIE

## NOTIONS FONDAMENTALES SUR LES ACIDES NUCLÉIQUES

Friedrisch-Miescher (1868), par digestion pepsique des cellules du pus, en isole les noyaux dont il retire une substance contenant du phosphore, qu'il dénomme « nucléin ». Des substances analogues sont isolées des cellules les plus variées appartenant, soit au règne animal, tête des spermatozoïdes de Saumon (Miescher, 1874), hématies d'Oiseaux (Kossel, 1881), soit au règne végétal, cellules de levures entières (Hoppe-Seyler, 1871), germe de blé (Osborne et Harris, 1902). Ces principes communs au règne animal et végétal, localisés dans les noyaux isolés des cellules animales, et considérés comme présentant par analogie une telle localisation exclusive dans les cellules végétales, où la séparation noyau-cytoplasme n'avait pu être réalisée, reçoivent le nom d'acides nucléiques.

La composition élémentaire, notamment établie par les analyses de Kossel, conduit à la notion de l'existence de deux acides nucléiques : l'un animal, acide thymonucléique, l'autre végétal, acide zymonucléique. Les travaux ultérieurs ont démontré la coexistence de ces deux acides chez tous les êtres vivants, avec une localisation cytologique précise : les acides thymo et zymonucléiques ne se répartissent pas entre le règne animal et végétal, mais entre le noyau et le cytoplasme de chaque cellule.

Cette histoire des acides nucléiques, commencée depuis moins d'un siècle, comporte peu de résultats indiscutables, malgré les nombreux travaux qui ont été effectués dans les domaines les plus variés : chimie, cytologie, physiologie, et à tous les niveaux d'évolution des êtres vivants.

Les acides nucléiques constituent un complexe dont on n'a fait qu'entrevoir l'importance biologique que résume cette phrase de A. Boivin : « Les nucléoprotéines constituent la pierre angulaire de l'organisation caractéristique de la matière vivante ». Dans ce chapitre, nous allons essayer de condenser quelques caractères fondamentaux des acides nucléiques en chimie, cytologie, embryologie, phylogenèse et physiologie.

# CHAPITRE PREMIER

## CHIMIE

Les données concernant la forme et la grosseur de la molécule sont peu nombreuses et incertaines; on peut dire, ainsi, que tout ce qui a trait à la chimie des acides nucléiques présente complexité et incertitude, contrairement à tout ce que l'on aurait pu croire au début du XX$^{e}$ siècle, après les travaux de KOSSEL et LEVÈNE.

Les premières analyses chimiques des acides nucléiques ont été effectuées par l'école de KOSSEL, aux environs de 1893-1894. Elles en ont établi la composition élémentaire qui, pour les deux acides nucléiques, se schématise ainsi : une molécule d'acide phosphorique, une molécule d'ose, deux molécules de bases puriques et deux molécules de bases pyrimidiques.

Les résultats primitivement acquis ont été particulièrement bien étudiés par JONES [115] et J. GRÉGOIRE [103], et nous nous bornerons à ne citer que ceux qu'il est indispensable de connaître pour comprendre nos résultats, en insistant plus particulièrement sur les données récentes qui opposent une complexité extrême à la simplicité tout d'abord admise.

Les acides zymo- et thymo-nucléiques cèdent en commun à l'hydrolyse des bases puriques (guanine, adénine) et une base pyrimidique (cytosine). Ils diffèrent : 1° par la nature de l'autre base pyrimidique : uracile dans la molécule d'acide zymonucléique, méthyluracile (thymine) dans la molécule d'acide thymonucléique, et 2° par la nature de l'ose : d. ribofuranose, dans la molécule d'acide zymonucléique, 2 désoxy-d.-ribofuranose, pour l'acide thymonucléique. Les appellations originelles d'acide thymo- et zymo-nucléique semblent devoir faire place à celles plus précises d'acide désoxyribonucléique et ribonucléique, vu la généralité de la répartition de ces substances.

La composition élémentaire étant établie, il était nécessaire d'approfondir les relations de ces différents constituants dans la molécule nucléique. Grâce aux travaux de Levène, on aboutissait successivement à la notion de nucléoside : union base-ose, par une liaison glucosidique, puis à celle de nucléotide : union nucléoside-acide phosphorique, par une fonction encore incertaine, ester phosphorique, semble-t-il. Chaque acide nucléique comporte donc quatre nucléotides différents par leur base, ce sont les acides guanylique, adénylique, cytidylique, communs aux deux acides nucléiques, mais différents par leur ose, l'acide uridylique particulier à l'acide ribonucléique, et thymique caractéristique de l'acide désoxyribonucléique.

L'analyse révélant une proportion équinoléculaire entre ces quatre nucléotides, conduisit Levène à émettre, dès 1909, l'hypothèse d'une structure tétranucléotidique des acides nucléiques, hypothèse qui a été confirmée ultérieurement. Les mesures titrimétriques effectuées par Fletcher et Gulland [97, 101] établissent que la principale liaison internucléotide est un groupe phosphoester sans pouvoir préciser l'hydroxyle intéressé, du sucre. Cette conception tétranucléotidique, qui correspond à une notion statistique comme l'ont montré Gulland et ses collaborateurs [102], étant posée, on a considéré le problème de la chimie des acides nucléiques résolu, assimilant la molécule nucléique à un simple tétranucléotide.

On s'est aperçu de l'erreur commise, car en réalité il faut considérer le poids moléculaire de l'acide nucléique qui force à admettre une polymérisation des nucléotides. « L'acide désoxyribonucléique renfermerait plusieurs centaines de tétranucléotides, et l'acide ribonucléique probablement quelques dizaines » (J. Grégoire [103]). La conception actuelle de la molécule nucléique doit s'appuyer sur certaines données : 1° substitution de la notion de polynucléotide à celle de tétranucléotide avec cette restriction que les nucléotides ne présentent pas une succession régulière et invariable, c'est-à-dire que la notion de tétranucléotide ne se transforme pas en celle de polytétranucléotide; 2° possibilité d'existence d'unités constitutives autres que les nucléotides, que l'analyse élémentaire n'a pas encore identifiées. La nature des différents éléments constituants (nucléotide, éléments étrangers éventuels) et leur mode d'union définissent la structure primaire de la molécule nucléique. Il s'y surajoute une structure secondaire qui correspond à « l'état de plissement ou de pelotonnement de cette chaîne ».

Compte tenu de ces faits, on conçoit une diversité considérable des acides nucléiques, diversité qui a été démontrée par les biologistes avant de l'être par les chimistes. Ce sont, en effet, les phénomènes de « mutation dirigée » qui ont tout d'abord conduit à admettre l'existence de très nombreux acides désoxyribonucléiques différents : « Chaque espèce bactérienne et bien plus vraisemblablement chaque gène de chaque espèce bactérienne, devant répondre à un acide particulier, se différencie de ses congénères par quelques détails de la structure, primaire ou secondaire, de la macromolécule. De même, et par raison d'analogie, il y a tout lieu de croire qu'à chaque gène d'un être supérieur, animal ou végétal, correspond un acide désoxyribonucléique spécial » (Boivin [18]). Cette hypothèse biologique de la multiplicité des acides nucléiques semble vérifiée par les récents travaux de Chargaff et de ses collaborateurs qui, effectués sur des acides de diverses provenances, montrent qu'ils diffèrent par les proportions relatives de leurs bases puriques et pyrimidiques, tant pour les dérivés à pentose [53] qu'à désoxypentose [53, 209, 214, 215].

## CONCLUSION DU CHAPITRE PREMIER

La conception moderne de la chimie des acides nucléiques abandonne la certitude d'une structure tétranucléotide, classiquement admise. Il s'agit d'une macromolécule dont on connaît certains constituants élémentaires sans pouvoir préciser leur mode d'union, ni leur proportion. A la notion primitive de deux acides nucléiques, il semble aujourd'hui qu'il faille substituer celle de deux types d'acide nucléique comportant chacun un très grand nombre de dérivés construits sur un schéma homologue.

Si l'établissement d'une formule chimique a rencontré des difficultés non encore résolues, la détermination de la localisation cellulaire n'a pas été plus aisée et comporte encore des incertitudes.

# CHAPITRE II

## LOCALISATION CELLULAIRE

### I. — HISTORIQUE

Cinquante ans après la découverte de Mieschер, on considère encore « l'acide thymonucléique » comme caractéristique du règne animal, et « l'acide zymonucléique » du règne végétal. Cependant, dès 1894, Hammarsten [104] fournit la première indication de la présence dans les tissus animaux d'un acide nucléique différent de « l'acide thymonucléique ». Les nombreux travaux relatifs à cette question font naître des doutes qui se résument dans cette phrase écrite par Jorpes [116], en 1924 : « Il semble bien probable que la distinction entre acides nucléiques animaux et végétaux disparaîtra dans l'avenir ». Quelques années plus tard, cet auteur retire du pancréas [117] de l'acide « thymo et zymonucléique ». Cette coexistence des acides nucléiques est également démontrée dans le règne végétal par Feulgen et ses collaborateurs [92] qui, grâce à un artifice de laboratoire (moulin spécial), enlèvent le cytoplasme des cellules de germes de céréales, isolant les noyaux, dont ils extraient un composé présentant les caractéristiques de « l'acide thymonucléique ».

Si, dès 1937, la coexistence des deux types d'acide nucléique est admise chez les êtres supérieurs, le problème de la localisation cellulaire n'est encore qu'à peine effleuré. Le développement des techniques cytologiques a permis de le résoudre.

La première en date est celle de Feulgen qui, utilisant le réactif à la fuschine bisulfitée, met sur la voie de la répartition nucléaire de l'acide désoxyribonucléique. Ce résultat est confirmé par les techniques spectrophotométriques de Caspersson, et de coloration au vert de méthyl-pyronine de Brachet, qui

doivent leur intérêt à l'emploi d'enzymes spécifiques de chacun des deux acides nucléiques, et permettent de situer l'acide ribonucléique essentiellement dans le cytoplasme, et l'acide désoxyribonucléique exclusivement dans le noyau.

Ces méthodes et les résultats auxquels elles ont conduit vont être brièvement envisagés.

## II. — MÉTHODES

### A. — Réaction de Feulgen

Signalée par Schiff (1866) pour les aldéhydes, elle a été appliquée aux acides nucléiques par Feulgen [91, 92] qui attribue la réaction au sucre, que Levène et ses collaborateurs [138] identifient au désoxyribose. La réaction de Feulgen, ainsi spécifique de l'acide désoxyribonucléique est donc basée sur le principe suivant : démasquer la fonction aldéhydique du désoxyribose en libérant le groupe purine par hydrolyse. Elle comporte donc successivement, après fixation, une hydrolyse de cinq à dix minutes par l'acide chlorhydrique N à 60°, puis après lavage, une coloration de deux heures à la fuschine bisulfitée, un nouveau lavage dans une eau riche en $SO_2$, puis dans l'eau distillée.

Cette réaction a été récemment modifiée par Alexander [3] dans la préparation de son réactif.

Les éléments Feulgen positifs, c'est-à-dire, à désoxyribose, se colorent en rouge. Stedman [186] montre que le produit coloré résultant est hydrosoluble et capable de diffuser. Il nécessite donc, pour se maintenir, un support qui l'adsorbe (protéine nucléaire, cellulose de la membrane), d'après les travaux de Gates [100], de telle sorte que si cette coloration identifie l'acide désoxyribonucléique, elle ne le localise pas, d'où la nécessité d'avoir recours à des méthodes plus précises.

### B. — Technique de Caspersson

Elle utilise la différence d'absorption dans l'ultra-violet des acides nucléiques (2.600 A°) et des protéines (2.800 A°). Mise au point par Caspersson, cette technique est basée sur des recherches antérieures. Dhéré [74] signale que l'acide ribonucléique présente une bande d'absorption dans l'ultra-violet au voisinage de 2.600 A°. Elle est due aux noyaux puriques et pyrimidiques qu'il comporte dans sa molécule. Heyroth et Loofbourow [108] trouvent le même spectre d'absorption

pour l'acide désoxyribonucléique. Caspersson [38, 42, 43, 45] applique cette propriété à l'étude des structures cellulaires qu'il effectue grâce au microscope à lentilles de quartz de Köhler [124], dont il augmente la sensibilité par substitution des méthodes photo-électriques aux méthodes photographiques primitives. Cette absorption étant commune aux deux grands types d'acide nucléique, la distinction est effectuée grâce à l'emploi de ferments spécifiques : ribonucléase et thymonucléase que complète la coloration de Feulgen. C'est aussi par recoupage que cette technique fournit des données quantitatives selon des modalités analysées par Pollister et Ris [163].

### C. — Technique de Brachet

Elle s'effectue par double coloration au mélange de Unna (vert de méthyl, 0,15 g.; pyronine, 0,25 g.; alcool à 96°, 2,5 cm³; glycérine, 20 cm³; eau phéniquée à 0,5 p. 100, q. s. p. 100 cm³) avec traitement par les nucléases. Après fixation au Helly ou au Carnoy (éviter le Bouin et le formol), on traite pendant une heure, à 65°, une lame par l'eau distillée, l'autre par la ribonucléase, puis on colore par le mélange de Unna. On peut vérifier les résultats tout en les complétant, en faisant agir la thymonucléase, cinq à dix minutes à 37°, en place de la ribonucléase.

Ces enzymes peuvent être obtenus selon la méthode de Fischer [96], à partir du pancréas qui en est la principale source. De nombreux procédés de préparation de la ribonucléase ont été indiqués : l'un d'eux permet de l'obtenir à l'état cristallisé (Kunitz [125]) ; mais, dans la pratique courante, la technique de Brachet [28], inspirée de celle de Dubos et Mc Leod, permet de se procurer facilement un ferment que l'on peut plus simplement encore avoir à sa disposition en faisant appel à l'une de ses sources, la salive, dont la teneur en ribonucléase a été signalée par Stübel [190]. Dubos [77] conseille d'augmenter la spécificité de la ribonucléase en la privant des traces de désoxyribonucléase par chauffage à 100° pendant dix minutes.

Vendrely (C. et R.) [204] substituent à la ribonucléase une hydrolyse chlorhydrique de quinze minutes à 60°, et obtiennent, disent-ils, des résultats comparables à ceux de Brachet : coloration rouge par la pyronine de l'acide ribonucléique, et verte (vert de méthyl) de l'acide désoxyribonucléique. Le mélange des deux acides prend une teinte violacée qui

serait également celle que donnerait l'acide désoxyribonucléique partiellement dépolymérisé sous l'influence des fixateurs cytologiques (C. et R. Vendrely [205]).

Cette remarque de Vendrely montre la difficulté de l'interprétation des examens cytologiques, difficulté qui explique la divergence des résultats acquis.

## III. — RÉSULTATS

Obtenus avec les méthodes précitées, ils portent sur la localisation de l'acide ribonucléique et désoxyribonucléique.

### A. — Localisation de l'acide ribonucléique

L'acide ribonucléique entre dans la constitution du nucléole, mais est avant tout un constituant cytoplasmique.

1° *Localisation cytoplasmique.* — Les travaux de Caspersson et Brachet nous forcent à admettre que les nucléoprotéines cytoplasmiques sont exclusivement du type ribonucléique. Claude [61, 62, 63], se basant sur les dosages du phosphore et l'étude des spectres d'absorption en ultra-violet, admet que l'acide ribonucléique semble n'être dans le cytoplasme qu'en association avec des granules : les microsomes (60 à 200 m$\mu$) et les mitochondries (0,5 à 3 $\mu$). La parenté chimique de ces deux catégories d'organites cellulaires, formés de protéines, de phospholipides et d'acide ribonucléique, a conduit certains auteurs à douter de leur originalité et à les faire dériver l'un de l'autre. Peu nous importe qu'il y ait une continuité ou une individualité, il nous intéresse seulement de savoir que 80 à 90 p. 100 de l'acide ribonucléique cellulaire total sont liés aux microsomes qui apparaissent comme des constituants normaux de toutes cellules vivantes, ordinairement dispersés dans le cytoplasme, mais qui semblent pouvoir s'agglomérer dans certains cas, pour donner naissance à des formations connues sous le nom de Corps de Nissl, au niveau du neurone, de grains de volutine (levure, Caspersson et Brandt [44], Brandt [34]; Trypanosome, Van den Berghe [200]), de filaments ergastoplasmiques étudiés par Caspersson [39, 46] et mis en évidence dans de nombreux organes, notamment des glandes à sécrétion interne (da Costa [51], Desclin [73], Herlant [107]). Pour Claude, la basophilie cytoplasmique des préparations cytologiques serait due aux acides nucléiques ayant diffusé à partir des granules dégradés,

auxquels ils sont fixés. Dans cet ordre d'idées, Caspersson et Brandt *(loc. cit.)* ont observé que, dans les cellules de levure au repos, les grains de volutine à acide ribonucléique sont au sein d'un hyaloplasme n'absorbant que peu les ultra-violets. Au cours de la croissance, les granules gonflent, se multiplient et disparaissent graduellement, tandis que le hyaloplasme absorbe de plus en plus d'ultra-violets et devient finalement homogène.

De ces multiples recherches nous pouvons conclure que l'acide ribonucléique semble présent dans le cytoplasme, en liaison avec des éléments cellulaires figurés, essentiellement représentés par les microsomes. A ces granules nucléoprotéiques ainsi constitués, sont liés de nombreux ferments (Brachet [32], Steinbach [187], Chantrenne [52]).

Que les nucléoprotéines soient exclusivement ribonucléiques ne signifie pas que l'acide ribonucléique ne se rencontre pas dans d'autres parties de la cellule.

2° *Localisation nucléolaire.* — Brachet [26] et Caspersson [49] signalent en effet la présence d'acide ribonucléique dans les nucléoles. Ceux-ci sont des constituants cellulaires mal connus, disparaissant à la mitose, et dont la teneur en acide ribonucléique serait variable : elle diminue pendant le jeûne protéique (Lagerstedt [126]); augmente dans le neurone au cours de la régénération de l'axone (Hyden [112]). Davidson [68] admet que sa constitution n'est pas homogène : elle est de type ribonucléique au centre, désoxyribonucléique à la périphérie.

Des dosages, effectués sur les noyaux isolés de l'intestin de Grenouille par Brachet [27], lui montrent que l'acide ribonucléique constitue 2,8 p. 100 du poids sec total, et l'acide désoxyribonucléique 25,9 p. 100, ce qui le conduit à admettre que les pentoses ne constituent pas l'apport exclusif des nucléoles, et que l'acide ribonucléique serait également présent en faible quantité dans les chromosomes. Il vérifie cette hypothèse par sa coloration au vert de méthyl-pyronine, et est en accord avec les résultats de Mirsky [150, 151]. Au cours de la mitose, les chromosomes se chargent d'acide ribonucléique jusqu'à la métaphase, et reperdent peu à peu ce surcroît au cours de l'anaphase et de la télophase. Vendrely [205], après étude des chromosomes géants des larves de chironome, conteste ces résultats, montrant que la coloration varie avec le degré de polymérisation de l'acide désoxyribonucléique.

### B. — Localisation de l'acide désoxyribonucléique

Si la localisation de l'acide ribonucléique n'est pas parfaitement précisée, celle de l'acide désoxyribonucléique le semble davantage : ce serait un constituant exclusivement nucléaire, les têtes des spermatozoïdes de quelques Poissons en renferment jusqu'à 60 p. 100. En réalité, ce taux varie considérablement au cours du cycle mitotique. Cette variation a été étudiée par Caspersson [38, 40 et 41] qui montre qu'au cours de la spermatogenèse, on assiste à une augmentation dans la prophase, et à une diminution dans la télophase. A la métaphase, le spectre d'absorption est presque le même que celui d'une solution d'acide nucléique pur.

La localisation exacte de l'acide désoxyribonucléique a été possible grâce à l'étude des chromosomes géants des glandes salivaires des larves de Drosophile, matériel particulièrement commode, qui a permis à Caspersson [38] de préciser que les chromosomes présentent une alternance de bandes simplement protéiques et de bandes dont la concentration en acide désoxyribonucléique est d'environ 10 p. 100. Ces bandes, épaisses et inégalement espacées, se succèdent selon une topographie bien déterminée, caractéristique de l'espèce. En réalité, le terme de bande ne correspond qu'à une figure microscopique, et des travaux récents ont montré que les chromosomes ne doivent pas être considérés comme présentant une alternance de segments de protéines et de segments d'acides nucléiques, mais comme constitués par des fils de protéine continus; chromonema porteurs de nœuds de nucléoprotéines : chromomères localisés en des points déterminés. Dans les chromosomes géants, ces chromomères affectent l'aspect de disques transversaux qui entoureraient le squelette protéique continu. Au niveau des chromomères, l'acide désoxyribonucléique n'est pas libre, mais sous forme de nucléoprotéines, en association par des liaisons salines à des protéines basiques (histone, protamine). Mirsky et Pollister [149] ont démontré l'insolubilité de ces nucléoprotéines. Cette insolubilité semble en rapport avec la concentration saline des liquides du corps : chez les Poissons élasmobranches, où la pression osmotique du milieu intérieur équivaut à celle d'une solution de ClNa 0,5 M, les nucléoprotéines à désoxyribose sont insolubles dans une solution de ClNa 0,5 M, tandis que celles retirées du Veau (pression osmotique correspond à celle d'une solution de ClNa 0,14 M) sont solubles dans une solution de ClNa 0,5 M, mais insolubles dans celle de ClNa 0,14 M.

## CONCLUSION DU CHAPITRE II

Les travaux de cytologie effectués grâce à des techniques variées : physiques (spectrophotométrie) et chimiques (réactif de Schiff, mélange d'Unna) montrent la généralité de la répartition des deux types d'acides nucléiques à toutes les cellules et substituent à la distinction primitive de localisation entre le règne animal (acide thymonucléique) et le règne végétal (acide zymonucléique) la notion de localisation cellulaire : essentiellement cytoplasmique (acide ribonucléique), exclusivement nucléaire (acide désoxyribonucléique).

Ces résultats ont été acquis par l'étude des organismes supérieurs. Il est intéressant de savoir si ces notions peuvent être généralisées aux êtres inférieurs. La répartition phylogénique des acides nucléiques va nous renseigner.

# CHAPITRE III

## RÉPARTITION PHYLOGÉNIQUE

L'étude des Vertébrés, Invertébrés, Protistes, Bactéries, Rickettsies et Virus va nous permettre de voir si les acides nucléiques participent à l'organisation de tous les êtres vivants avec la même importance, et selon des modalités cytologiques voisines.

### I. — VERTÉBRÉS ET INVERTÉBRÉS

Compte tenu des variations apportées par les méthodes analytiques qu'emploient les différents auteurs, l'acide ribonucléique apparaît comme un constituant cellulaire essentiellement variable d'un tissu à l'autre, ainsi que dans un même tissu. Cette répartition paraît en rapport avec la physiologie des organes : Brachet [28] conclut de ses recherches que les « cellules riches en acide pentosonucléique sont toujours celles où se déroulent d'importantes synthèses de protéines (sécrétion de ferments, accumulation de deutoplasme, multiplication cellulaire) », et pour un tissu, il semble donc qu'il faille considérer l'âge, le sexe, l'espèce, l'état de nutrition. Ce facteur nutritionnel a été particulièrement mis en relief par Davidson et Waymouth [70], Davidson [67], Brachet et ses collaborateurs [33].

En opposition des variations intenses de l'acide ribonucléique, ces auteurs insistent sur la constance relative de l'acide désoxyribonucléique qui est même considérée par Boivin et Vendrely [19], Vendrely [202 et 206], Mirsky et Ris [152 et 169], comme une constante caractéristique de l'espèce : Ris [167], étudiant la mitose (méristème d'Oignon) et la méiose (spermatocytes de Sauterelles), montre que l'augmen-

tation d'acide désoxyribonucléique qui se produit au cours de la prophase (mitose et première division méiotique), pour atteindre à la métaphase une valeur maximum, environ double de celle de la période de repos, correspond à une augmentation de la masse totale des chromosomes : à une duplication. Les résultats acquis chez les Mammifères (Bœuf, Lapin, Mouton, Rat, Homme) montrent qu'en tenant compte du rapport de l'acide ribonucléique à l'acide désoxyribonucléique on peut classer les tissus en trois catégories : 1° rapport supérieur à l'unité et élevé, chez les organes à synthèse protéique importante : foie (rapport voisin de 4), pancréas (rapport variant de 5 à 13 selon les auteurs); 2° rapport voisin de l'unité quand la synthèse protéique est peu intense : rein, cerveau (rapport voisin de 1,8); 3° rapport inférieur à 1 : thymus, rate (voisin de 0,5). Davidson [68] donne un tableau résumé des résultats de nombreux auteurs.

De ces données, nous pouvons conclure que les deux types d'acide nucléique se retrouvent dans toutes les cellules de tous les êtres supérieurs avec une localisation distincte et stricte, mais dans un rapport variable comportant plus d'acide ribonucléique que d'acide désoxyribonucléique dans les tissus physiologiquement actifs. L'acide ribonucléique seul varie dans des limites assez vastes; l'acide désoxyribonucléique semble, au contraire, une constante spécifique.

## II. — PROTISTES

On a peu de résultats qui s'y rapportent. Chez les Paramécies, Brachet [28] note la présence d'acide ribonucléique dans le cytoplasme. Les résultats sont moins nets pour les noyaux : le macronucléus semble renfermer les deux types d'acide ribonucléique, et le micronucléus probablement aussi.

## III. — BACTÉRIES

Les résultats ont fait l'objet de nombreuses publications, notamment de l'école de Boivin, qui décrivent toutes la teneur élevée des Bactéries en acide nucléique, par laquelle elles surpassent toutes les cellules des métazoaires et des protistes, exceptés les éléments lymphoïdes et les spermatozoïdes. Boivin [11] insiste sur la généralité de la coexistence des deux types d'acide nucléique chez un même microbe, avec prédominance de l'acide ribonucléique (5 à 20 p. 100 du poids sec)

sur l'acide désoxyribonucléique (1 à 5 p. 100 du poids sec) (Vendrely et Lehoult [201, 203], Sevag et collaborateurs [181]). Les marges indiquées sont assez vastes, car, en effet, la teneur en acide nucléique varie avec les espèces et, pour une même espèce, présente d'une souche à l'autre des variations considérables; mais elle ne semble pas être en rapport avec la physiologie bactérienne : intensité respiratoire, capacité de multiplication, constitution antigénique, degré de virulence (Boivin et collaborateurs [17]).

Pendant la phase de latence, le taux en acide ribonucléique s'accroît considérablement pour atteindre, à la fin de la phase de latence et au début de la phase logarithmique, un maximum d'une fois et demie à deux fois supérieur à la valeur de repos, tandis que l'acide désoxyribonucléique reste pratiquement constant (Boivin et Vendrely [12], Caspersson et collaborateurs [44 et 47], Malmgren et Hyden [140]).

On peut se demander si les acides nucléiques bactériens présentent la même constitution chimique que ceux isolés des levures et des organismes supérieurs. Si l'on ne tient compte que des produits d'hydrolyse, la parenté semble exister : adénine, guanine, cytosine, uracile, thymine ont été identifiés par les nombreux auteurs que ce sujet a intéressés (Ferramola [89], *B. anthracis;* Mitra [153], Vibrion du choléra; Akasi [2], *B. typhi murin;* Stahl et collaborateurs [185], *Brucella).* L'acide tuberculinique retiré de la tuberculine brute est un acide à désoxyribose qui donne à l'hydrolyse de la thymine, et qui renfermerait, selon Johnson et Coghill [114], une pyrimidine spéciale, la méthyl-5-cytosine, que Vischer et collaborateurs [209] n'ont pas trouvée dans leur analyse du bacille de la tuberculose aviaire, pour lequel ils ont montré l'homologie des bases avec celles de l'acide zymonucléique, mais insistent sur une différence dans leur proportion. La chimie des acides nucléiques, telle qu'on la conçoit aujourd'hui, ne tient pas seulement compte de la nature des bases azotées, mais aussi de leur mode d'union, de leur proportion, ainsi que des phénomènes d'isomérie, et ce problème de l'identité des acides nucléiques n'est pas encore résolu.

On s'est aussi posé la question de savoir si la localisation des acides nucléiques était aussi compartimentée que chez les êtres supérieurs. Nous tombons là dans le problème fort controversé du noyau bactérien, à l'étude duquel se sont passionnés de nombreux auteurs, mais qui n'est pas encore résolu (Piekarski [161], Robinow [170, 171], Tulasne et

Vendrely [197, 198], Piéchaud [160]). Parmi les nombreuses techniques préconisées, nous signalerons particulièrement celle de l'école de Boivin, aux nucléases, qui permet aux auteurs de conclure : « Chez les bactéries, l'acide désoxyribonucléique existe en grande quantité dans un cytoplasme basophile » (Boivin, Tulasne et Vendrely [20]). Une conclusion aussi catégorique n'est pas celle de Piekarski qui, dans une revue récente [161 bis], se refuse à donner aux bactéries un noyau ayant la valeur de celui des êtres supérieurs, et l'appelle « nucléoïd ». Il l'homologue aux chromosomes, notamment par sa teneur en acide désoxyribonucléique. Donc, si l'existence du noyau bactérien est discutée, les auteurs semblent s'accorder pour attribuer aux acides nucléiques une localisation distincte.

Signalons qu'une confusion semble avoir été faite entre l'acide ribonucléique et une substance appelée « métachromatine », qui possède la propriété de provoquer le virage au rouge violacé de certains colorants d'aniline tels que le bleu de nil, et qui a été trouvée seulement chez les organismes inférieurs (champignons, bactéries). Wiame [212], dans ses études sur la levure, dissocie entre la basophilie orthochromatique due à l'acide ribonucléique, et la basophilie métachromatique qui, selon lui, mettrait en cause une substance polyphosphorée, distincte des acides nucléiques, et montrant quelques analogies avec l'acide adénosine triphosphorique. Wiame étend cette conclusion aux corpuscules bactériens de même apparence.

Ainsi, les acides nucléiques participent à la constitution de la cellule bactérienne selon les modalités décrites pour les êtres supérieurs, mais avec une importance accrue.

## IV. — RICKETTSIES

Nous leurs donnons une place à part, en accord avec Faure-Fremiet [87] qui les classe dans les inframicrobes « éléments infectieux situés à la limite de la visibilité microscopique ».

Peu de travaux relatifs aux acides nucléiques semblent avoir été faits sur ces organismes : Tovarnickij et collaborateurs [195], travaillant sur *Rickettsia prowasecki*, trouvent 12 p. 100 d'acide nucléique, ce qui, joint au taux élevé de lipoïdes, place chimiquement ces organismes entre les bactéries et les virus.

Callot et Vendrely [36], appliquant la technique aux nucléases sur des frottis d'ovaires infestés par *Rickettsia*

*pipientis,* et des frottis vaginaux de Cobayes infestés par un virus typhique d'origine murine, semblent démontrer la prédominance d'acide désoxyribonucléique.

La question se pose encore de savoir si l'acide désoxyribonucléique est localisé au niveau d'un corps nucléaire : Callot et Vendrely n'ont pas observé de différenciations cytologiques. Ris et Fox [168], par emploi du microscope à contraste de phase et du microscope électronique, affirment une organisation interne comportant des noyaux différenciés.

## V. — VIRUS

Les virus étudiés jusqu'à ce jour se caractérisent par leur richesse en acide nucléique, d'autant supérieure qu'ils sont plus simples (1 à 40 p. 100), et par la présence d'un seul acide nucléique dans un virus donné.

Les virus végétaux jusqu'ici analysés sont tous ribonucléoprotéiques (virus de la mosaïque du tabac, du bushy-sunt de la tomate, de la nécrose du tabac) ; les virus animaux sont indifféremment à acide nucléique à pentose (encéphalomyélite équine) ou à désoxypentose (vaccine). Cette notion de l'existence séparée des acides nucléiques des virus est discutée : Mirsky [148] émet l'hypothèse que, dans le virus de la vaccine, les lavages éliminent une grande partie de l'acide ribonucléique, raison pour laquelle on n'en a pas mis en évidence. Le bactériophage T 2, étudié par Taylor [191] et Hook [111], contiendrait plus de 40 p. 100 d'acide désoxyribonucléique, et de plus faibles quantités d'acide ribonucléique, variables avec le milieu d'origine. Cette affirmation est contestée par Cohen [64], pour qui l'acide désoxyribonucléique est le seul constituant (99 p. 100). Pour cet auteur, il en est de même du virus de l'influenza, contrairement au travaux de Knight [123].

De même que pour les bactéries, on a essayé d'analyser les acides nucléiques des virus pour les comparer à ceux des organismes supérieurs (Loring [130 bis], Hoagland et collaborateurs [109]), et si des produits d'hydrolyse homologues ont été isolés, on ne peut cependant pas en conclure à l'identité de constitution, vu notre ignorance de celle-ci. Loring *(loc. cit.)* signale d'ailleurs que l'acide uridylique de la mosaïque du tabac serait isomère de celui de la levure. Dans cet ordre d'idées, un résultat intéressant a été obtenu par Cohen et Stanley [65], qui ont isolé du virus de la mosaïque

du tabac un acide ribonucléique hautement polymérisé (poids moléculaire moyen : 300.000), qui se dépolymérise spontanément en particules asymétriques (poids moléculaire moyen : 61.000).

Les virus apparaissent donc à la limite, comme des acides nucléiques hautement polymérisés ou, selon l'expression de Boivin [10] : « des molécules supergéantes de nucléoprotéines ».

## CONCLUSION DU CHAPITRE III

En conclusion de cette revue bibliographique, les acides nucléiques apparaissent comme des constituants cellulaires généraux d'importance croissante lorsqu'on descend dans l'échelle des êtres vivants. Les virus, formes à la limite inférieure de la vie, incapables d'une activité indépendante, ne comporteraient qu'un seul type d'acide nucléique. Certains mêmes, les plus inférieurs, seraient une « molécule » nucléoprotéique. Une organisation plus complexe semble se traduire par la coexistence de deux types d'acides nucléiques à localisation distincte, et dans un rapport variable, l'acide ribonucléique semblant une caractéristique physiologique, et l'acide désoxyribonucléique une constante spécifique. Actuellement, on ne peut pas préciser si les acides nucléiques rencontrés aux différents échelons de l'organisation cellulaire ont la même valeur chimique; leur parenté semble toutefois assez proche.

Les données de chimie, cytologie, phyllogenèse, relatives aux acides nucléiques nous conduisent à considérer qu'ils se répartissent en deux catégories distinctes par leur constitution, leur localisation, et chez les êtres les plus inférieurs, les virus, leur indépendance est telle qu'ils ne coexisteraient même plus. Cependant, les résultats acquis montrent un parallélisme constant qui permet de se demander si cette distinction n'est pas plus apparente que réelle. L'étude des rapports des deux acides nucléiques au cours du développement embryonnaire va peut-être nous fournir des renseignements.

# CHAPITRE IV

## ONTOGENÈSE

Les travaux les plus importants dans ce domaine ont été faits par Brachet, ainsi que par J. Needham et M. Needham. Les résultats acquis par ces auteurs et de nombreux autres chercheurs correspondent à des analyses chimiques et cytologiques sur les premiers stades du développement d'organismes appartenant à des groupes variés. De ces recherches on peut conclure qu'il semble exister une variation considérable, avec les espèces, de l'amplitude et des modalités de l'élaboration des acides nucléiques pendant le développement embryonnaire, avec synthèse constante d'acide désoxyribonucléique qui se ferait à partir d'acide ribonucléique, selon Brachet, dont les résultats sont contestés.

Brachet montre que la synthèse de l'acide désoxyribonucléique, au cours de l'embryogenèse, se fait essentiellement selon deux types :

1° Synthèse partielle par transformation, au cours du développement, de l'acide ribonucléique emmagasiné dans l'œuf. L'exemple le mieux étudié est l'Oursin (Brachet [22, 23, 24, 25 et 29], Needham [157]).

2° Synthèse totale dans un œuf renfermant primitivement peu d'acide nucléique dont l'exemple est l'œuf de Poule.

Ces types constituent deux extrêmes entre lesquels se trouvent des organismes occupant une position douteuse; et J. Needham [156], se basant sur les données actuelles qu'il précise être « encore fragmentaires », classe les embryons en quatre catégories, d'après leur métabolisme nucléique : 1° simple transformation de l'acide ribonucléique emmagasiné en acide désoxyribonucléique (Echinodermes, Vermidiens, Mollusques, Arthropodes); 2° transformation et synthèse

d'acide désoxyribonucléique (Amphibiens) ; 3° synthèse d'acide ribonucléique et d'acide désoxyribonucléique, à partir de bases puriques emmagasinées (Téléostéens, Sélaciens) ; 4° synthèse totale d'acide ribonucléique et d'acide désoxyribonucléique (Oiseaux, Reptiles).

J. Brachet [30] tente d'intégrer le métabolisme des acides nucléiques dans une conception unique; le développement embryonnaire comporte deux aspects : augmentation du volume cellulaire et mitose. L'augmentation du volume cellulaire s'accompagne d'une augmentation du taux en acide ribonucléique. La mitose comporte une transformation d'acide ribonucléique en acide désoxyribonucléique. L'interprétation du métabolisme nucléique est conçue, selon cet auteur, comme un équilibre entre ces deux processus : chez l'embryon de Poulet, prédominance des processus synthétiques; chez l'embryon d'Oursin, prédominance de la division cellulaire.

Cette parenté des deux acides nucléiques n'est pas généralement admise; Cohen [64], Schmidt et collaborateurs [177], Villée et collaborateurs [208], se basant sur l'emploi des corps marqués semblent montrer leur indépendance.

## CONCLUSION DU CHAPITRE IV

Dans l'état actuel de nos connaissances, il n'y a donc pas de preuve absolue de la filiation des deux types d'acide nucléique. Pour essayer de comprendre le parallélisme que leur étude fait ressortir, nous allons nous adresser à leur rôle physiologique.

# CHAPITRE V

## PHYSIOLOGIE

En envisageant la répartition cellulaire des acides nucléiques, nous avons déjà vu que le dérivé à pentose est un constituant cellulaire essentiellement variable, particulièrement abondant dans les cellules actives, tandis que le dérivé à désoxypentose est présent à un taux relativement constant en rapport avec l'espèce. On a tenté d'expliquer ces données en essayant de démêler le mécanisme physiologique auquel ils participent.

### I. — ACIDE RIBONUCLÉIQUE

#### A. — Pouvoir inducteur

Ainsi que Brachet l'a montré expérimentalement, il possède une action inductrice, ce qui ne signifie pas qu'il soit organisateur. Ce pouvoir « évocateur » ne lui est d'ailleurs pas particulier : les hydrocarbures polycycliques, les stéroïdes se sont notamment montrés actifs. On a signalé, en outre, qu'au cours de l'ontogenèse, l'acide ribonucléique se répartit selon un gradient diminuant progressivement du pôle animal au pôle végétatif. Pendant la gastrulation, il s'y superpose un gradient dorso-ventral, et il y a correspondance exacte entre le gradient ribonucléoprotéique et le gradient de potentiel morphogénétique.

#### B. — Rôle de protection

On lui a également attribué un rôle dans les phénomènes de protection; d'après Boivin [10], il participerait à la consti-

tution de l'antigène somatique des bactéries gram positives; Dubos et collaborateurs [81, 82, 83 et 84], par emploi de la ribonucléase, tendraient à montrer qu'un acide nucléique à ribose interviendrait dans la constitution de l'antigène du pneumocoque. Delaunay et collaborateurs [71] montrent que les nucléoprotéides libérés au cours de l'antolyse bactérienne attirent les phagocytes *in vivo*, à un degré nettement moindre, cependant, que les haptènes polysaccharidiques et les antigènes glucido-lipidiques également présents dans les autolysats des mêmes germes.

### C. — Rôle dans la synthèse des protéines

Ce sont là des résultats encore fragmentaires et d'interprétation extrêmement délicate. Les recherches ont particulièrement porté sur une propriété plus générale, qui est celle du rôle de l'acide ribonucléique dans la synthèse des protéines : la cytochimie qualitative et quantitative montrent un parallélisme entre la concentration cytoplasmique de l'acide ribonucléique et la synthèse protéique (sécrétions de ferments, vitellogenèse, multiplication cellulaire) (Caspersson et collaborateurs [46, 48, 50], Brachet [26, 28]). Mais, en dépit de nombreuses tentatives faites, on n'a pas pu établir de preuve absolue de l'importance des acides nucléiques dans la synthèse des protéines, et Spiegelman, en collaboration avec Kamen [183], conclut qu'il semble invraisemblable qu'un seul type de composé phosphorylé (acides nucléiques) puisse être la clef de tout le mécanisme. Brachet, de son côté, attire l'attention sur le fait que, dans la cellule, l'acide ribonucléique est étroitement lié à un certain nombre d'enzymes, et sur la possibilité d'intervention de tout le complexe particulaire.

Cette imprécision du rôle physiologique de l'acide ribonucléique va se retrouver pour l'acide désoxyribonucléique.

## II. — ACIDE DÉSOXYRIBONUCLÉIQUE

### A. — Rôle dans les phénomènes d'hérédité

Il semble responsable du déterminisme des caractères héréditaires. Autrefois, on considérait que chaque gène était une macromolécule nucléoprotéique résultant de la combinaison entre un acide désoxyribonucléique identique pour tous les gènes et une protéine propre à ce gène. Le rôle essentiel dans la transmission des caractères était donc dévolu aux protéines. La découverte des phénomènes de mutation dirigée a inversé

le problème, montrant le rôle primordial de l'acide désoxyribonucléique, qui présente un grand nombre de formes calquées sur le même type.

La mutation étant définie comme le passage d'une constitution génique (génotype) à un autre génotype, on dit qu'une mutation est dirigée lorsque le nouveau génotype est choisi. Griffith a, le premier, découvert la possibilité d'un tel phénomène chez les bactéries : travaillant sur les pneumocoques (formes S et R de différents types), il provoque la mutation d'une forme en une autre par culture de la première en présence des éléments tués de la seconde. Mais, la nature même du principe inducteur de la mutation a été découverte par Avery, Mc Leod et Mc Carty [4, 139], comme étant l'acide désoxyribonucléique : certaines souches de pneumocoque du type 2 peuvent se transformer en pneumocoque type 3, lorsqu'on les cultive en présence d'acide désoxyribonucléique retiré par voie chimique sans le dépolymériser du pneumocoque type 3; ces phénomènes ont été généralisés à d'autres bactéries par Boivin et collaborateurs [13, 14, 15, 16], pour *Escherichia coli;* Weil et collaborateurs [211], pour *Shigella paradysenteriae;* Manninger et collaborateurs [141] qui obtinrent la mutation du *Bacillus anthracis* en sa forme proche parente : *Bacillus mesentericus.*

Boivin et Vendrely [19], pour apporter une nouvelle preuve en faveur de l'hypothèse de la nature désoxyribonucléique des gènes, partent de l'idée que toutes les cellules somatiques de tous les individus d'une même espèce, comportant le même stock génique, doivent contenir une même teneur absolue en acide désoxyribonucléique. Cette teneur est celle des cellules somatiques diploïdes, et est le double de celle des gamètes aploïdes. Leurs travaux sur différentes espèces, joints à ceux de Mirsky et Ris, ont déjà été cités et confirment ces données théoriques.

L'acide désoxyribonucléique semble donc le dépositaire des caractères héréditaires, et il était tentant de voir dans l'acide ribonucléique le support des caractères acquis. Une telle hypothèse a été faite par Boivin et collaborateurs [17, 18] qui écrivent : « L'organisation et la différenciation de l'infinie variété de cellules pourraient se ramener en dernière analyse à d'innombrables modifications de détail dans la structure d'un même type d'édifice chimique fondamental : l'acide nucléique substratum des caractères héréditaires et aussi bien des caractères acquis ».

## CONCLUSION DE LA DEUXIÈME PARTIE

Cette brève revue bibliographique sur la question des acides nucléiques a eu pour but de faire ressortir leur importance considérable dans la vie de la cellule. On les entrevoit comme des caractéristiques cellulaires, sans pouvoir préciser leur rôle, rôle d'autant plus complexe qu'il semble plus capital; et, comme témoignage de cette importance, il suffit de citer Boivin : « L'organisation si caractéristique de tout ce qui est doué de vie, aurait ainsi pour thème fondamental la constitution et le groupement en ordre défini de ces molécules de nucléoprotéides, lesquelles, par des actions de nature catalytique, sans doute, viendraient contrôler en dernière analyse l'édification de toutes les structures et le déroulement de toutes les fonctions des êtres vivants ».

# TROISIÈME PARTIE

## ÉTUDE DE L'INFLUENCE DES ACIDES NUCLÉIQUES SUR LE DÉVELOPPEMENT DE « GLAUCOMA PIRIFORMIS »

(ÉTUDE EXPÉRIMENTALE)

Dans les chapitres précédents, nous montrons, grâce à des données bibliographiques, que les acides nucléiques, répartis en deux groupes, occupent dans la vie de la cellule un rôle de premier plan qu'ils jouent avec des modalités variables selon le groupe auxquels ils appartiennent. L'étude des travaux de KIDDER et de DEWEY fait ressortir, par ailleurs, la parenté qui existe entre la nutrition azotée des Mammifères et celle du Cilié *Glaucoma piriformis*.

Il est tentant de voir si les acides nucléiques impriment à cet organisme des modifications métaboliques, témoignage d'une sensibilité, tout comme la pathologie semble en démontrer une chez les êtres supérieurs.

Peu de travaux ont été faits sur ce sujet. Les protistologues semblent d'ailleurs ne pas avoir attaché aux acides nucléiques l'importance que les bactériologistes leur accordent : KIDDER et DEWEY [120] ont introduit dans leur milieu synthétique des « acides nucléiques d'hydrolysat de levure », pour une raison qui nous est d'ailleurs inconnue, mais qui est peut-être une conséquence des travaux d'UGATA [199], lesquels, à notre connaissance, sont les seuls à mentionner la sensibilité des Ciliés aux dérivés nucléiques. Travaillant sur *Paramœcium caudatum*, en présence de bactéries, cet auteur montre que le nucléate de sodium, sans en préciser la nature, détermine, à la concentration de 0,025 p. 100 à 0,005 p. 100 dans une infusion de foin, une accélération de la vitesse de division. La solution à 0,005 p. 100 est d'ailleurs plus active que celle à 0,025 p. 100. L'auteur, n'opérant pas en milieu stérile, montre que l'influence sur la division des paramécies semble être directe sur les Ciliés plutôt qu'indirecte en influençant la croissance des bactéries du milieu, puisque, selon lui, il n'existe pas de parallélisme rigoureux entre la multiplication des bactéries et celle des paramécies.

Ces travaux comportent quelques imperfections :

— Etude en présence de bactéries;

— Evaluation de la croissance, ne tenant compte que de la vitesse de division;

— Imprécision de la nature des acides nucléiques.

Grâce à la souche bactériologiquement pure de A. Lwoff, le premier inconvénient est évité : l'addition d'acides nucléiques au milieu de culture influence directement la croissance du Cilié, sans intermédiaire des bactéries.

Notre étude va donc avoir essentiellement pour objet d'apprécier la sensibilité de *Glaucoma piriformis* en culture bactériologiquement pure, dans ses modalités et son intensité, à l'action de deux types séparés d'acide nucléique. Pour cela, nous devons déterminer comment évaluer la croissance des micro-organismes, et caractériser la nature des acides nucléiques employés.

# CHAPITRE PREMIER

## ÉVALUATION DE LA CROISSANCE DE « GLAUCOMA PIRIFORMIS »

Nous avons déjà signalé la possibilité de variations de taille de *Glaucoma piriformis :* elles ont été à l'origine de la complexité de la nomenclature d'Ehrenberg; Milkovitch les a constatées à la suite de l'addition de sérum humain à un milieu de culture peptoné de base. D'ailleurs, il suffit d'observer une culture à différentes phases de son développement pour constater cette variabilité, phénomène général chez les micro-organismes, et que les bactériologistes connaissent bien.

A priori, il semble donc que l'évaluation de la croissance soit incomplète si elle ne tient compte que de la vitesse de division. Pour mettre au point un test de croissance, il faut en premier lieu considérer ceux choisis par les auteurs qui se sont occupés de la nutrition de *Glaucoma piriformis* et d'organismes apparentés; nous discuterons ensuite de leur valeur, et serons ainsi amené à préciser le test choisi.

### I. - TESTS DE CROISSANCE DES MICRO-ORGANISMES

#### A. — Les bactéries

C'est l'appréciation de la croissance des bactéries qui a fait l'objet des plus nombreux travaux, et les auteurs ont imaginé les méthodes les plus variées. Une étude complète en est faite par Faguet [84] et A. M. Ronchèse [172]. Parmi les plus intéressantes, nous citerons :

— Dénombrement des germes, soit directement, à l'aide d'un hématimètre ou sur frottis, procédé étudié par Klein

[122] et abondamment modifié, notamment par Henriques [106], dans le but de supprimer certaines causes d'erreurs, soit indirectement, en mélangeant la suspension de micro-organismes dans des proportions données, avec du sang dont la teneur en hématies est connue. Il suffit alors de déterminer la proportion hématies/microbes, et de cette proportion déduire le nombre de microbes (technique au sang de Wright) ;

— Mesure du volume occupé par les germes;

— Poids de la masse microbienne;

Mesure d'opacité des cultures par des procédés variés : comparaison du trouble des suspensions bactériennes à une opacité standard (Boland, 1902), cessation de visibilité d'une grille (Davidson, 1916), emploi de photomètres en turbidimétrie qui, depuis leur découverte, vu la facilité et la rapidité des mesures, ont détrôné les autres procédés et sont actuellement seuls considérés.

### B. — « Glaucoma piriformis »

Pour évaluer la croissance de *Glaucoma,* Emerique-Blum et A. Lwoff [83], dans leur technique de dosage biologique de la vitamine $B_1$, effectuent des numérations à la cellule de Nageotte, après fixation au formol dans la proportion d'une goutte pour quinze de cultures.

Kidder et Dewey *(loc. cit.)*, Harding [105] apprécient la croissance de *Glaucoma,* par des numérations, et expriment les résultats en nombre d'éléments par centimètre cube.

Dans le cas de *Glaucoma piriformis,* la turbidimétrie se substitue également à la numération, comme le montrent les récents travaux de Kidder et Dewey, ainsi que ceux de Molho et Lacroix [154].

On assiste donc à une tendance générale à substituer aux procédés de numération directe, les procédés par turbidimétrie.

## II. — VALEUR DES TESTS DE CROISSANCE COURAMMENT UTILISÉS

Précisons que les tests pondéraux et volumétriques nécessitent une quantité de culture trop importante pour permettre de suivre commodément la croissance d'une souche. Ces déterminations, effectuées sur de faibles volumes, conduisent à des imprécisions considérables, comme nous avons pu le constater

par l'emploi de tubes à centrifuger capillaires gradués du type « hématocrite ».

Il nous reste donc seulement à envisager l'indice turbidimétrique, et la numération.

### A. — Rapports entre l'indice turbidimétrique et la numération

Avant de nous prononcer pour l'une ou pour l'autre de ces techniques, il convient de connaître la valeur exacte des tests de croissance basés sur les propriétés optiques d'une culture. Il suffit de se reporter aux travaux de Vles [210] qui se propose de déterminer « jusqu'à quel point, et à quel point de vue peuvent être considérées comme égales deux émulsions bactériennes qui ont la même opacité ».

Après avoir défini une émulsion bactérienne comme un système homogène à deux phases, sinon à trois, dans lequel interviennent : les bactéries, le liquide interbactérien qui peut éventuellement contenir des granules colloïdaux, l'auteur montre que la plupart des causes d'erreurs provenant de la deuxième phase d'un tel milieu sont réduites en opérant, dans le cas de bouillon de culture ordinaire, en lumière monochromatique de longueur d'ondes comprises entre 600 et 650 $\mu$. Vles conclut de ses travaux « qu'une mesure opacimétrique faite dans certaines conditions expérimentales (lumière monochromatique déterminée) nous présente sensiblement la quantité de substance en volume... ou en poids sec présentes dans l'émulsion ». « Ces quantités de substances peuvent être exprimées conventionnellement en nombre de bactéries fictives, d'un volume ou d'un poids sec moyen déterminé. »

Les mesures turbidimétriques traduisent donc une quantité de substance et non une valeur numérique absolue : du chiffre lu sur le cadran d'un absorptiomètre on ne peut pas déduire le nombre d'organismes, vu les variations considérables d'état qu'ils présentent. Il suffit, pour en avoir une idée précise, de lire la conclusion de A. M. Ronchèse : « L'opacité des suspensions microbiennes d'un même nombre de germes par unité de volume varie dans d'assez grandes limites d'un germe à l'autre, il peut aussi varier d'une souche à l'autre pour un même germe, mais dans des limites plus étroites ». Pour se convaincre de l'étendue des limites, citons quelques chiffres qui nous montrent l'absence de parallélisme entre la concentration numérique et l'intensité d'absorption.

*Micrococcus catarrhalis*

| | Nombre par cm³ (moyenne) | Indice turbidimétrique |
|---|---|---|
| Souche I..... | 251.080.000 | 9 |
| | 487.933.000 | 18 |
| | 940.607.000 | 36 |
| Souche II..... | 684.905.000 | 13,5 |
| | 1.028.768.000 | 27 |
| | 1.960.885.000 | 54 |
| Souche III..... | 143.116.000 | 16 |
| | 278.948.000 | 32 |
| | 557.642.000 | 64 |

Dans le cas de *Glaucoma* qui nous intéresse, il faut bien se garder de convertir la lecture photométrique en valeur numérique, étant données les variations d'état qui se manifestent normalement dans une culture, en fonction du temps, ainsi que lorsqu'on passe d'un type de milieu à un autre, comme nous le verrons ultérieurement.

En opérant dans des conditions précisées plus loin (courbe n° 1), nous avons observé un parallélisme rigoureux entre l'indice opacimétrique et le nombre d'éléments, à égalité de taille. Mais, en étudiant des suspensions à égalité numérique de Ciliés de taille variable, les divergences turbidimétriques sont considérables et correspondent aux points 4, 5, 6 occupant une position particulièrement aberrante dans notre courbe n° 1.

Numération, d'une part, turbidité, d'autre part, constituent deux catégories de données entièrement différentes. Le deuxième procédé résume un aspect global de la croissance, associant en particulier numération et état des éléments, et semble, par là même, renseigner de façon plus précise sur la croissance d'une souche que ne le fait la numération qui ne constitue que l'un des aspects du phénomène.

### B. — Inconvénients de l'opacimétrie

L'opacimétrie présente quelques inconvénients valables pour tous les micro-organismes, mais dont certains sont particuliers à *Glaucoma*.

Le premier inconvénient découle de la discussion précédente, et réside dans l'impossibilité de dissocier entre le

nombre et l'état des organismes. La turbidimétrie fournit un résultat global. Or, certains facteurs peuvent agir seulement sur l'une des deux variables, d'où l'intérêt d'une dissociation.

Un autre désavantage, s appliquant à tous les organismes cultivés en milieu stérile, est la nécessité de disposer d'un photomètre, permettant les mesures d'opacité en tubes stérilisables et non en cuves à faces parallèles.

Enfin, *Glaucoma piriformis* est un aérobie strict qui se concentre, comme nous l'avons déjà vu, à la surface des milieux de culture. Cette tendance est telle qu'elle se manifeste macroscopiquement, immédiatement après homogénéisation d'une culture par agitation. Ce phénomène est sensibilisé par le photomètre, dont l'aiguille n'occupe pas une position stable, mais dévie de façon continue vers le zéro. D'où la nécessité, pour faire une lecture correcte, de tuer les Ciliés, par quelques gouttes de formol, par exemple, ajoutées au milieu. La culture est détruite dans ces conditions, et il n'y a donc pas possibilité de suivre son évolution dans le temps.

*Conclusions.* — De cette discussion sur la valeur des tests d'appréciation de la croissance des micro-organismes, il nous semble que les mesures turbidimétriques fournissent les meilleurs résultats, à condition de conserver à ceux-ci leur valeur optique, sans les convertir en valeurs numériques, et de les compléter par une numération, afin de dissocier entre le nombre et l'état des micro-organismes. Les méthodes optiques ne sont cependant pas pratiques pour suivre la croissance du Cilié que nous étudions, puisqu'elles nécessitent la destruction de la souche, vu la tendance de ces organismes à se concentrer en surface.

## III. — NÉCESSITÉ DE DÉFINIR UN TEST DE CROISSANCE

Les conclusions tirées de la discussion précédente nous ont amené à définir un test de croissance répondant aux exigences suivantes :

— Etre en rapport avec l'état de *Glaucoma piriformis;*

— Tenir compte du nombre;

— Permettre la détermination sur un faible volume de culture, afin de suivre l'évolution de celle-ci.

### A. — Test de croissance individuelle

Les nombreuses tentatives expérimentales effectuées nous ont conduit à apprécier l'état de *Glaucoma* par la mesure de

ses deux principales dimensions, cet organisme étant sensiblement un ovoïde. Nous les appelons « longueur » et « largeur », et les désignons par les lettres respectives L et l. Ces dimensions doivent être envisagées dans leur valeur absolue (L × l) et dans leur rapport (L/l). C'est pour répondre à ce double but que nous posons un coefficient de croissance $\frac{L \times l}{A - l}$ dans lequel A est une constante qui permet d'introduire la notion de rapport des dimensions. Sa valeur est définie en fonction de l'unité de mesure choisie pour les dimensions.

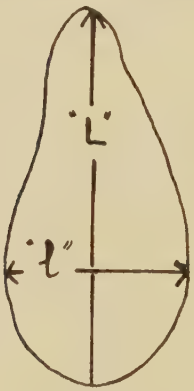



Schéma de *Glaucoma piriformis*, montrant à quel niveau L et l sont mesurés.

Toutes nos mensurations sont effectuées à l'aide du micromètre oculaire Zeiss, et avec un objectif × 40. Pour ce grossissement, la valeur de chaque division micrométrique déterminée à l'aide du micromètre objectif, correspond à 21 $\mu$. Nos résultats sont exprimés directement en graduation micrométrique, et dans ces conditions, nous posons A = 10, de telle sorte que notre coefficient devient $\frac{L \times l}{10 - l}$.

En déterminant ce coefficient pour un certain nombre de cellules d'une culture (20 au minimum), et en faisant la moyenne des résultats obtenus, on obtient un chiffre qui traduit la croissance moyenne d'une cellule, et que nous appelons : « coefficient de croissance individuelle ».

### B. — Test de croissance collective

Le produit du « coefficient de croissance individuelle » par le nombre N de cellules au mm³ $\left(\frac{L \times l}{10 - l} \times N\right)$ est la manifestation d'une croissance collective, et peut être nommé, par opposition au précédent qu'il complète : « coefficient de croissance collective ». Nos numérations sont effectuées à l'aide d'une cellule de Nageotte, après fixation et dilution convenables, dans tout le volume de la cellule (10 mm³).

Les mensurations et numérations sont effectuées sur des Ciliés fixés à l'aide du réactif conseillé par E. Brumpt : solu-

tion au 1/10e de liquide de Bouin, dans une dilution de formol à 5 p. 100. Ce fixateur nous sert en même temps de diluant, et il suffit de III gouttes de culture prélevées stérilement, pour la détermination de ces deux coefficients de croissance.

Nous avons donc défini un coefficient de croissance qui répond aux trois qualités exigées : dissociation entre l'état et le nombre qui, dans leur ensemble, définissent la quantité de substance; détermination sur un volume infime. En pratique, voyons comment ce coefficient peut être déterminé, puis étudions quelle est son objectivité.

## IV. — PRATIQUE DE LA DÉTERMINATION DES COEFFICIENTS DE CROISSANCE DÉFINIS

### A. — Prélèvement de la culture

Par agitation du tube, on homogénéise la culture, puis immédiatement, à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, on prélève III gouttes de culture que l'on introduit dans un tube à hémolyse. En utilisant la même pipette, on ajoute un nombre de gouttes suffisant de fixateur de Bouin dilué au formol, pour réaliser une dilution, au titre que l'expérience montre comme étant la plus favorable pour la numération. La dilution au 1/6e est celle qui nous donne les meilleurs résultats.

### B. — Numération et mensuration des Ciliés

Après homogénéisation, on effectue la numération dans une cellule de Nageotte et les résultats, compte tenu du coefficient de dilution, sont exprimés en nombre d'éléments par millimètre cube de culture.

On détermine les mesures sur le même prélèvement après sédimentation spontanée, afin de recueillir le plus grand nombre d'éléments, sans risque d'altérer leur forme, comme il se pourrait par centrifugation. Les cellules introduites entre lame et lamelle pourraient se trouver imparfaitement à plat, en position plus ou moins oblique, même après inclusion dans un gel de type « alginique », dont nous avons montré la possibilité d'obtention [5] ; afin d'obvier à cet inconvénient, toutes nos mensurations ont été effectuées sur le sédiment, emprisonné entre lame et lamelle, par le lut de Rondeau du Noyer, et ont porté sur un minimum de 20 cellules.

## V. — VALEUR DES COEFFICIENTS DE CROISSANCE DÉFINIS

Pour juger la valeur de nos coefficients, nous prendrons deux critères :

— Comparaison des résultats à ceux que fournissent les mesures turbidimétriques;

— Détermination sur des cultures nombreuses et variées, et étude de l'allure de ces variations.

### A. — Variations comparées des « coefficients de croissance collective et individuelle » aux indices turbidimétriques.

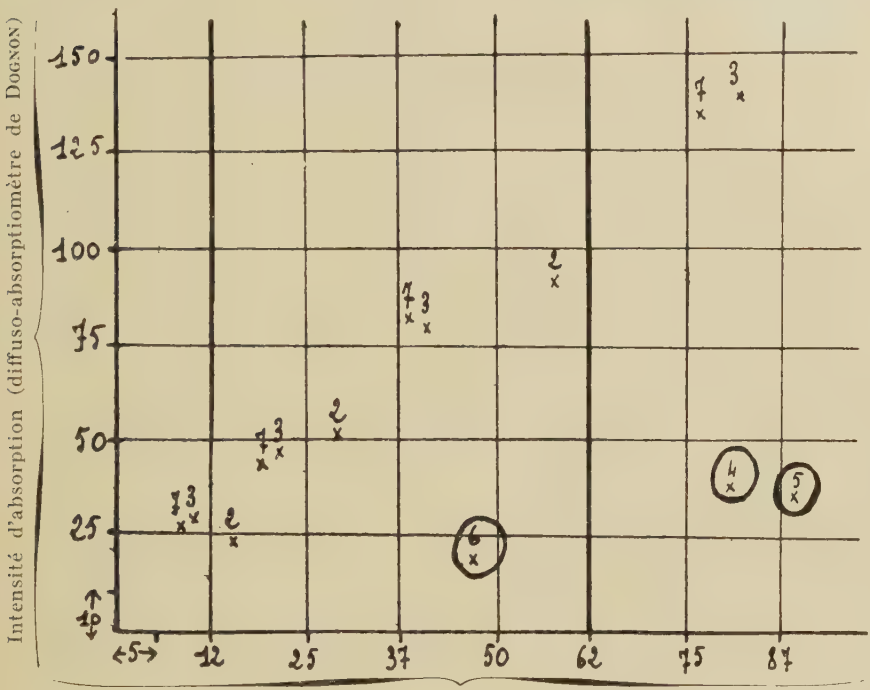
Nos mesures ont été effectuées au diffuso-absorptiomètre de Dognon, en absorption 7°5, écran rouge (conseillé par

TABLEAU I

| N° de la souche | Chiffre du photomètre | Dilution | Nombre (mm³) | L | l | $\frac{L \times l}{10 - l}$ | $\frac{L \times l}{10 - l} \times N$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2 | 93 | 0 | 57,6 | 2,87 | 1,21 | 0,39 | 22,4 |
| | 52 | 1/2 | 29,0 | | | | 11,2 |
| | 24 | 1/4 | 14,5 | | | | 5,6 |
| 3 | 140 | 0 | 81,6 | 2,82 | 1,28 | 0,41 | 33,4 |
| | 78 | 1/2 | 40,8 | | | | 16,7 |
| | 49 | 1/4 | 20,4 | | | | 8,4 |
| | 28 | 1/8 | 10,2 | | | | 4,2 |
| 4 | 39 | 0 | 81,2 | 1,29 | 0,7 | 0,09 | 7,2 |
| 5 | 35 | 0 | 89,4 | 1,14 | 0,66 | 0,08 | 7,1 |
| 6 | 20 | 0 | 46,2 | 1,30 | 0,68 | 0,09 | 4,1 |
| 7 | 133 | 0 | 76,2 | 2,92 | 1,18 | 0,39 | 29,7 |
| | 79 | 1/2 | 38,1 | | | | 14,8 |
| | 46 | 1/4 | 19,0 | | | | 7,4 |
| | 28 | 1/8 | 9,5 | | | | 3,7 |

Vles), grille 1, cuve de 1 centimètre, sensibilité 80 (*).

En utilisant des cultures d'âges différents et de concentration numérique variable, nous avons pu établir une courbe




COURBE 1

Courbe des variations de l'intensité d'absorption en fonction du nombre de Ciliés par mm³

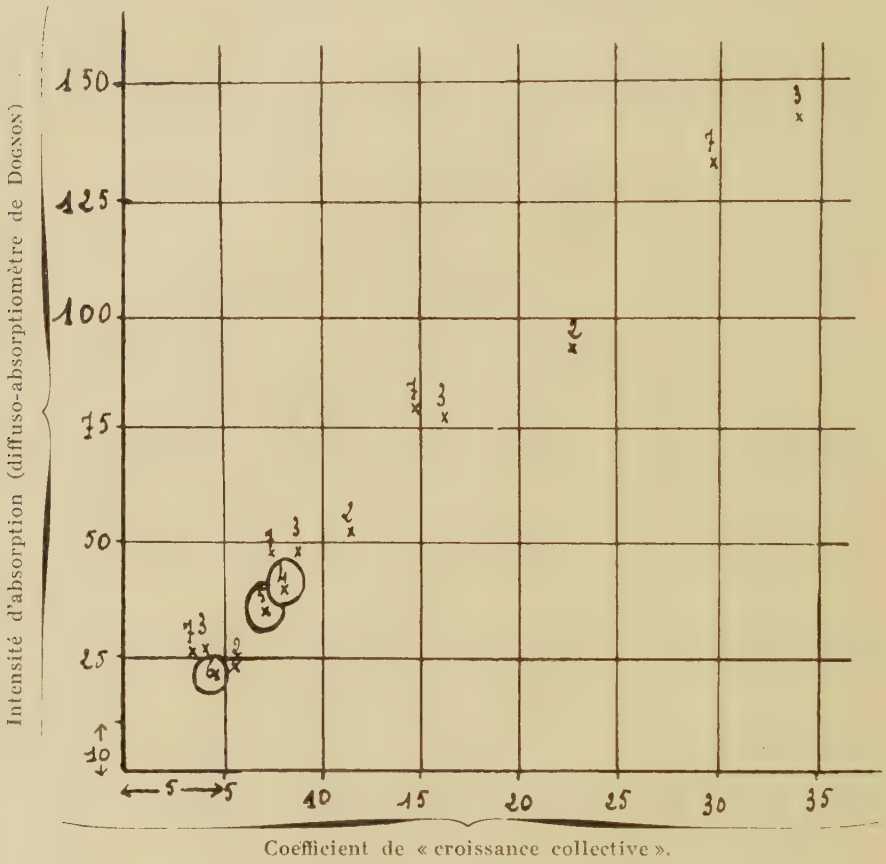
Les points présentant la même numérotation correspondent à des dilutions d'une même souche : égalité d'état des Ciliés.

Noter la position des points 4, 5, 6 correspondants à une souche âgée, riche en petits éléments.

des variations de l'intensité d'absorption (chiffre du photomètre) en fonction du coefficient de croissance collective (tableau I, courbe n° 2). On obtient pratiquement une droite qui démontre la proportionnalité entre les deux valeurs. Un

(*) Nous remercions M. le Professeur Aubertin d'avoir bien voulu nous permettre d'utiliser son diffuso-absorptiomètre, et M. Debot de sa collaboration pour effectuer les mesures.

résultat particulièrement intéressant est fourni par les mesures turbidimétriques effectuées sur des cultures âgées riches en Ciliés de petite taille. Les chiffres qu'elles nous donnent,




COURBE 2

COURBE DES VARIATIONS DE L'INTENSITÉ D'ABSORPTION EN FONCTION DU « COEFFICIENT DE CROISSANCE COLLECTIVE »

Les points présentant la même numérotation correspondent à des dilutions d'une même souche : égalité d'état des Ciliés.
Noter la position des points 4, 5, 6 sur la droite de proportionnalité.

reportés sur un graphique exprimé en fonction du nombre d'éléments par millimètre cube (tableau I, courbe n° 1) et numérotés 4, 5, 6, occupent une place tout à fait aberrante. Ces mêmes valeurs, reportées dans le graphique II, viennent

se placer sur la droite de proportionnalité entre coefficient d'absorption et coefficient de croissance collective.

De ces résultats, nous pouvons conclure que notre « coefficient de croissance collective » est proportionnel aux mesures optiques et traduit donc, comme elles, une quantité de substance.

### B. — Variations des « coefficients de croissance collective et individuelle » sur différents milieux

Dans cette partie, nous déterminerons les valeurs prises par nos coefficients de croissance, et l'allure de leurs variations :

— dans un milieu de composition donnée en fonction du temps;

— dans des milieux de composition différente.

Notre étude va porter sur trois types de milieux : milieu à base de peptone, de cervelle et de placenta. Le premier servira de milieu de base dans la suite de notre expérimentation.

Les résultats correspondant à une culture constituent la moyenne de ceux obtenus sur quatre tubes ensemencés aseptiquement avec une goutte de culture prélevée avec la même pipette Pasteur, dans une même souche de trois à quatre jours comportant une concentration de 20 à 40 éléments par millimètre cube. Les essais de pureté bactériologique sont effectués sur bouillon à 37°.

#### a) *Milieu à base de peptone*

Le milieu utilisé est celui de A. Lwoff.

| | |
|---|---|
| Peptone 5 C (Vaillant) ..... | 10 g. |
| ClNa ..... | 1 g. |
| Eau bidistillée ..... | 1.000 cm³ |

On fait dissoudre à chaud, et on maintient l'ébullition dix minutes. On laisse alors refroidir, on neutralise à pH = 7,00, grâce à de la soude à 10 p. 100; on filtre et on répartit par 5 cm³, en tubes que l'on bouche, puis stérilise à l'autoclave pendant vingt minutes, entre 115° C. et 120° C., en veillant à ne pas dépasser cette température; Lwoff a montré qu'après chauffage à plus de 120° C., la culture se fait mal ou ne se fait pas; tout se passe comme si un facteur de croissance était alors détruit. Nous utilisons des tubes de 16 mm. de diamètre, en Pyrex, afin de ne pas modifier le pH au cours de la stérilisation. Nous les trions soigneusement afin de ne

conserver que les tubes de calibre régulièrement identique. Cette précaution est importante, car les *Glaucoma* étant aérobies strictes, sont influencées dans leur concentration numérique par la surface de contact du milieu avec l'air. La culture, effectuée à 20° C., comporte une phase de « latence » au cours de laquelle elle n'est macroscopiquement pas visible. Elle dure environ quatre jours. On voit très aisément, macroscopiquement, par agitation légère du tube, quand la culture « part ». Dès ce moment, on effectue des prélèvements de façon aseptique, afin de déterminer les variations du coefficient de croissance dans les conditions antérieurement précisées. Quelques-uns des résultats que nous avons obtenus sont groupés au tableau II. L'examen des chiffres que comporte ce tableau montre que, numériquement, la concentration maximum est atteinte aux environs du sixième jour, et se maintient jusqu'aux environs du dixième jour. Les Ciliés deviennent alors très petits, la culture semble entrer en dégénérescence, comme le prouvent les mensurations, et présente d'ailleurs un faible dépôt qui, examiné, comporte des formes monstrueuses, volumineuses et bourgeonnantes, parfaitement vivantes. Nos mesures sont arrêtées au neuvième ou dixième jour. (Le prélèvement exclusif du dépôt est réalisé à l'aide d'une pipette finement étirée à son extrémité, en même temps que légèrement coudée et scellée. Un trait de lime donné près de l'extrémité permet de briser la pipette par percussion contre le fond du tube.) Le « coefficient de croissance individuelle » présente une diminution continue, tandis que le « coefficient de croissance collective » passe par un maximum aux environs du sixième jour, pour une valeur, relativement constante, allant de 28 à 32.

## TABLEAU II

CARACTÉRISTIQUES D'UNE CULTURE DE « GLAUCOMA PIRIFORMIS » EN FONCTION DU TEMPS.

(Nombre, coefficient de croissance individuelle et collective.)

1° *Milieu peptone.*

| CULTURE NUMÉRO | AGE (JOURS) | NOMBRE ($MM^3$) | L | l | COEFF. CROISS. INDIV. | COEFF. CROISS. COLLECT. (*) | MOYENNE NUMÉRIQUE (**) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 140 | 3 | 56,5 | 2,47 | 1,44 | 0,41 | 23,2 | 88,4 |
| | 4 | **84,3** | 2,43 | 1,22 | 0,33 | **27,8** | |
| | 6 | **79,0** | 2,12 | 1,03 | 0,24 | 19,0 | |
| | 8 | **102,0** | 1,82 | 0,94 | 0,18 | 18,4 | |
| | 11 | 52,2 | 1,27 | 0,72 | 0,09 | 4,7 | |
| 210 | 4 | 48,2 | 3,00 | 1,66 | 0,59 | 28,4 | 82,0 |
| | 6 | **81,3** | 2,80 | 1,26 | 0,40 | **32,5** | |
| | 8 | **84,8** | 2,57 | 1,09 | 0,34 | 28,8 | |
| | 10 | **80,0** | 2,20 | 1,04 | 0,25 | 20,0 | |
| | 12 | 48,6 | 1,81 | 0,86 | 0,16 | 7,8 | |
| 240 | 4 | 28,4 | 2,93 | 1,78 | 0,63 | 17,9 | 82,5 |
| | 6 | **84,1** | 2,81 | 1,21 | 0,37 | **31,1** | |
| | 8 | **76,0** | 2,45 | 1,07 | 0,29 | 22,0 | |
| | 10 | **87,6** | 2,24 | 1,10 | 0,27 | 23,6 | |
| | 12 | 74,6 | 1,66 | 0,78 | 0,14 | 10,4 | |
| 1.100 | 4 | 39,4 | 2,77 | 1,50 | 0,48 | 18,9 | 77,2 |
| | 6 | **77,5** | 2,71 | 1,18 | 0,36 | **27,9** | |
| | 8 | **77,5** | 2,51 | 1,05 | 0,29 | 22,5 | |
| | 11 | 76,8 | 1,86 | 0,97 | 0,19 | 14,6 | |
| Fo | 4 | 28,2 | 2,57 | 1,43 | 0,42 | 11,8 | 76,0 |
| | 5 | 30,5 | 2,89 | 1,22 | 0,40 | 12,2 | |
| | 6 | **88,9** | 2,76 | 1,16 | 0,36 | **32,0** | |
| | 7 | **75,6** | 2,79 | 1,05 | 0,32 | 24,2 | |
| | 8 | **63,6** | 2,13 | 0,98 | 0,23 | 14,6 | |

(*) Le coefficient de croissance collective maximum est en caractère gras.

(**) La moyenne numérique correspond à la concentration maximum par millimètre cube de culture, et est obtenue en faisant la moyenne entre les chiffres correspondant au maximum, et en caractère gras.

### B) *Milieu cervelle*

A. Lwoff a montré que les milieux aux organes stérilisés permettent une très longue survie des Ciliés. Comme milieu de conservation de nos souches, nous employons, sur les conseils de Lwoff, un milieu cervelle préparé en mettant dans un tube environ 2 g. de cervelle et 10 cm³ d'eau bidistillée. Après stérilisation de vingt minutes à 120°, le pH est aux environs de 7,2. En utilisant les méthodes précédemment décrites, on obtient le tableau III qui nous montre que :

— numériquement, le maximum s'établit pour une valeur élevée de l'ordre de 180 par mm³;

— le coefficient de croissance individuelle présente, comme

TABLEAU III

Caractéristiques d'une culture de « Glaucoma piriformis » en fonction du temps.

(Nombre, coefficient de croissance individuelle et collective.)

2° *Milieu cervelle.*

| Culture numéro | Age (jours) | Nombre (mm³) | L | I | Coeff. croiss. indiv. | Coeff. croiss. collect. (*) | Moyenne numérique (**) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 115 | 3 | 23 | 2,66 | 1,58 | 0,49 | 11,2 | 205 |
| | 6 | 224 | 2,63 | 1,31 | 0,39 | **87,3** | |
| | 9 | 213 | 2,55 | 1,33 | 0,39 | 83,1 | |
| | 12 | 177 | 2,48 | 1,32 | 0,37 | 65,5 | |
| 136 | 3 | 42 | 2,70 | 1,64 | 0,52 | 21,8 | 162 |
| | 6 | 151 | 2,75 | 1,43 | 0,45 | **67,9** | |
| | 9 | 162 | 2,65 | 1,29 | 0,39 | 63,1 | |
| | 12 | 172 | 2,44 | 1,29 | 0,36 | 61,9 | |
| 148 | 4 | 39 | 2,18 | 1,65 | 0,41 | 16,0 | 177 |
| | 6 | 244 | 2,49 | 1,58 | 0,46 | **112,2** | |
| | 9 | 179 | 2,52 | 1,46 | 0,43 | 76,9 | |
| | 12 | 109 | 2,34 | 1,24 | 0,33 | 36,0 | |

(*) Le coefficient de croissance collective maximum est en caractère gras.

(**) La moyenne numérique correspond à la concentration maximum par millimètre cube de culture, et est obtenue en faisant la moyenne entre les chiffres correspondant au maximum, et en caractère gras.

dans le milieu peptone de base, une diminution continue dans des limites du même ordre;

— le coefficient de croissance collective passe par un maximum aux environs du sixième jour, pour une valeur fort élevée variant aux environs de 88.

Les écarts constatés proviennent sans doute de ce que les déterminations ont été faites sur des milieux préparés à l'aide d'échantillons de cervelles différentes, dont la composition n'était vraisemblablement pas identique.

L'augmentation sensible du coefficient de croissance collective est due à une variation du nombre et non du coefficient de croissance individuelle.

### c) *Milieu placenta de Brebis*

L'emploi d'extraits d'organes dans les cultures de *Glaucoma* nous a fait penser à utiliser un milieu employé en microbiologie pour la première fois à Téhéran, en 1942, afin de pallier la rareté et le prix de la viande : il s'agit d'un milieu à base de placenta, dont les qualités, selon Prévot [164], « le placent très nettement au-dessus de tous les autres milieux jusqu'ici employés pour les anaérobies ». Nous l'avons préparé selon la technique de Filatov [93], légèrement modifiée, que nous indiquons, à partir de placenta de Brebis de deux à trois mois.

Le placenta prélevé à l'abattoir, aussitôt après la mort des Brebis, est maintenu sept jours à la glacière. On le broie alors, puis on le dilascère à l'état d'une fine pulpe, dans un mortier, par trituration avec du sable lavé et calciné. On le met à macérer une heure à la température du laboratoire, dans dix fois son poids d'eau distillée, en agitant fréquemment. On décante ensuite le sable qui s'est déposé, et on porte au bain-marie bouillant pendant cinq à dix minutes. L'ébullition doit être atteinte lentement pour faciliter la filtration. Après refroidissement, on passe sur gaze puis on porte à l'autoclave à 120° pendant cinq minutes. Lorsque le liquide brunâtre est parfaitement refroidi, on le passe sur un filtre serré double jusqu'à obtention d'un milieu légèrement opalescent et ne déposant pas. On répartit en tubes par prises de 5 $cm^3$ et on stérilise à 120° pendant vingt minutes. Le pH de ce milieu est aux environs de 7,2.

Ce milieu placenta de Brebis permet la culture des *Glaucoma* avec des caractéristiques mentionnées au tableau IV.

La concentration numérique maxima atteinte aux environs du sixième jour dépasse 100 éléments par $mm^3$. (Comme dans

le milieu cervelle, on observe des variations de faible amplitude provenant de la différence des échantillons d'organes utilisés.)

Le coefficient de croissance individuelle présente une diminution continue à partir de valeurs nettement supérieures

TABLEAU IV

CARACTÉRISTIQUES D'UNE CULTURE DE « GLAUCOMA PIRIFORMIS » EN FONCTION DU TEMPS.

(Nombre, coefficient de croissance individuelle et collective.)

3° *Milieu placenta.*

| CULTURE NUMÉRO | AGE (JOURS) | NOMBRE ($MM^3$) | L | l | COEFF. CROISS. INDIV. | COEFF. CROISS. COLLECT. (*) | MOYENNE NUMÉRIQUE (**) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 212 | 3 | 56 | 3,37 | 1,91 | 0,79 | 44,5 | 124 |
| | 6 | 104 | 3,31 | 1,81 | 0,76 | **79,0** | |
| | 9 | **98** | 2,96 | 1,49 | 0,52 | 50,9 | |
| | 12 | **169** | 2,41 | 1,47 | 0,41 | 69,3 | |
| 216 | 2 | 69 | 3,33 | 2,17 | 0,92 | 63,5 | 183 |
| | 5 | 93 | 3,20 | 1,87 | 0,73 | 67,9 | |
| | 8 | **148** | 2,93 | 1,47 | 0,50 | 74,0 | |
| | 11 | **247** | 2,46 | 1,13 | 0,31 | **76,6** | |
| | 14 | **245** | 1,85 | 1,05 | 0,21 | 51,4 | |
| 220 | 3 | 59 | 3,84 | 1,94 | 0,92 | 54,3 | 145 |
| | 6 | **109** | 3,14 | 1,71 | 0,70 | **76,3** | |
| | 9 | **107** | 2,85 | 1,75 | 0,67 | 71,7 | |
| | 12 | **91** | 2,53 | 2,09 | 0,34 | 30,9 | |
| | 15 | **245** | 2,34 | 2,29 | 0,26 | 63,7 | |
| | 19 | **176** | 1,35 | 1,33 | 0,15 | 26,4 | |

(*) Le coefficient de croissance collective maximum est en caractère gras.

(**) La moyenne numérique correspond à la concentration maximum par millimètre cube de culture, et est obtenue en faisant la moyenne entre les chiffres correspondant au maximum, et en caractère gras.

(0,8 à 0,9), et le coefficient de croissance collective passe par un maximum élevé aux environs de 77. Cette augmentation, par rapport au milieu peptone de base, est due au nombre d'éléments qui sont également plus volumineux.

### D) *Discussion*

Les résultats obtenus en suivant l'évolution de la croissance de *Glaucoma piriformis* sur différents milieux nous montrent une variation continue du coefficient de croissance collective que nous avons défini, variation qui affecte la même allure dans les trois milieux choisis, et qui est celle d'une courbe en cloche.

Le maximum très intéressant, car particulièrement facile à saisir, présente, par rapport à un milieu peptone pris comme témoin, des modifications dues soit à une variation numérique sans modification du coefficient de croissance individuelle (milieu cervelle), soit à une variation numérique jointe à celle du coefficient de croissance individuelle (milieu placenta).

Ces exemples montrent tout l'intérêt d'une dissociation nombre, état des éléments, ce que ne permettent pas les autres mesures optiques.

## CONCLUSIONS DU CHAPITRE PREMIER

Le coefficient de croissance collective que nous nous proposons d'étudier pour apprécier la réponse des cultures de *Glaucoma piriformis* à l'action des acides nucléiques, présente une objectivité et des qualités que les données turbidimétriques, jointes aux mesures expérimentales démontrent, et qui peuvent se résumer ainsi :

— Correspondance avec les chiffres du photomètre;

— Variations continues de même allure, affectant l'aspect d'une courbe en cloche, dans les différents milieux;

— Maximum variant entre des limites voisines pour un même milieu;

— Dissociation entre l'état individuel et le nombre;

— Détermination sur un faible volume de culture.

Les mesures effectuées au cours de notre étude ont établi plus de 500 « coefficients de croissance collective » correspondant aux mensurations de plus de 10.000 Ciliés, et ont toujours fourni des résultats concluants.

# CHAPITRE II

## CARACTÉRISATION DE LA NATURE DES ACIDES NUCLÉIQUES EMPLOYÉS

Nous avons vu qu'Ugata, dans ses travaux, ne précise pas la nature du nucléate de sodium employé. Or, nous savons qu'il ne faut pas considérer un acide nucléique, mais deux types d'acides nucléiques qui interviennent différemment dans la physiologie cellulaire. D'où la nécessité d'étudier séparément l'action d'un des représentants de chacune des deux catégories. Ceci demande de s'assurer que les échantillons d'un type ne sont pas souillés par l'autre, et exige des méthodes d'identification des acides nucléiques.

Nous avons utilisé les acides nucléiques Byla (*) qui présentent les caractéristiques suivantes :

Acide ribonucléique :

Origine : levure de bière.
Humidité : 12,5 p. 100.
P (100 g. de produit sec) : 8,3.
N (100 g. de produit sec) : 14,8.

Acide désoxyribonucléique :

Origine : laitance de poisson.
Humidité : 15,9 p. 100.
P (100 g. de produit sec) : 9,8.
N (100 g. de produit sec) : 15,2.

Nous avons effectué sur chacun d'eux des réactions d'identification afin de bien nous assurer qu'ils ne renferment pas de quantités décelables de l'autre variété.

(*) Nous remercions les Laboratoires Byla de l'amabilité qu'ils ont eu de nous fournir à titre gracieux les échantillons d'acides nucléiques que nous avons utilisés.

## I. — IDENTIFICATION DE L'ACIDE DÉSOXYRIBONUCLÉIQUE DANS L'ACIDE RIBONUCLÉIQUE PAR LA RÉACTION DE DISCHE.

Nous avons utilisé la réaction de DISCHE à la diphénylamine [76]. Elle est donnée par le désoxyribose d'un nucléotide à purine, et est négative lorsque le désoxyribose est dans un nucléotide à pyrimidine. Cette différence est due à la plus grande facilité des nucléotides à purine d'être hydrolysés par l'acide du réactif :

| | |
|---|---|
| Diphénylamine R. P. ..... | 1 g. |
| Acide acétique R. P. ..... | 100 » cm³. |
| $SO_4H_2$ conc. (D. 1,84) ..... | 2,75 cm³. |

Pour réaliser cette réaction, on traite au bain-marie bouillant, pendant dix minutes, la substance contenant l'acide désoxyribonucléique par 3 cm³ d'eau et 6 cm³ de réactif. Il apparaît une coloration bleue qui s'intensifie avec le temps.

L'acide pyruvique à 1 p. 100, l'acétaldéhyde, le fructose, le mannose à 10 p. 100 donnent, dans les conditions opératoires, une faible coloration verte ou brune; le méthylglyoxal, l'aldéhyde glycérique à 0,1 p. 100 fournissent une intense coloration verte.

Cette réaction est quantitative et se prête à une lecture colorimétrique au bout de trois ou quatre heures.

Nos échantillons d'acide ribonucléique nous ont donné des résultats négatifs, et nous en déduisons qu'ils ne renferment pas de traces d'acide désoxyribonucléique décelables par la réaction de DISCHE.

## II. - IDENTIFICATION DE L'ACIDE RIBONUCLÉIQUE DANS L'ACIDE DÉSOXYRIBONUCLÉIQUE PAR NOTRE MÉTHODE PERSONNELLE.

La réaction classique est celle de BIAL à l'orcine ferrique en milieu chlorydrique; elle donne une couleur verte avec les pentoses. Il suffit de traiter à l'ébullition 2 cm³ de la solution à examiner par 5 cm³ de réactif (orcine : 1,50 g.; HCl concentré : 500 cm³; $Cl_3Fe$ à 10 p. 100 : XX à XXX gouttes). MEJBAUM [145] a réalisé une application de cette technique au dosage de l'acide ribonucléique.

Vu l'impossibilité de nous procurer de l'orcine, nous avons mis au point, en collaboration avec P. BLANQUET, une techni-

que dont nous n'indiquerons que l'essentiel. C'est une application de la réaction colorimétrique décrite par Partridge [159] pour déceler les oses sur les chromatogrammes. Blass, Machebœuf et Nunez ont montré que cette réaction n'avait pas lieu en solution, et qu'il fallait réaliser une évaporation complète pour que la réaction colorée se manifeste. De ces données, nous avons déduit le principe suivant pour l'identification de l'acide ribonucléique :

— Nécessité d'une hydrolyse libérant l'ose responsable de la réaction d'identité;

— Opérer à sec.

### A. — Hydrolyse. — Concentration. — Dessiccation

Les alcalis, excellents solvants des acides nucléiques, ne permettent pas la réaction effectuée dans des conditions précisées ultérieurement.

La solution dans l'acide chlorhydrique au demi est portée goutte à goutte sur un carré de papier filtre serré de 1 cm. de côté (papier Whatman n° 4) déposé dans un petit entonnoir Pyrex de 3,5 cm. dans son plus grand diamètre, sur les parois duquel il n'appuie que par ses quatre angles. Ce dispositif est placé dans une étuve à température constante de 60°. Au cours de ce traitement, il se réalise simultanément trois phases de la réaction :

— Hydrolyse chlorhydrique à 60° C.;

— Concentration de la solution : lorsqu'une goutte est à peu près évaporée, on en ajoute une autre, et ainsi on peut augmenter la concentration;

— Dessiccation, condition de la réaction de Partridge.

Lorsque la dernière goutte est évaporée, on expose le carré de papier aux vapeurs d'ammoniaque, jusqu'à cessation de dégagement de fumées blanches, afin d'éliminer les traces de chlore qui, ainsi que l'expérience nous l'a montré, inhibent la réaction.

On procède ensuite à la coloration proprement dite.

### B. — Réaction colorée de Partridge

On met une à deux gouttes de réactif de Partridge (aniline : 0,93 g.; acide phtalique : 1,16 g.; butanol saturé d'eau : 100 $cm^3$) sur le carré de papier, et on porte entre 90-95° C. pendant huit à dix minutes. La température de 105-110° maintenue pendant cinq minutes, que conseille

Partridge, n'est pas nécessaire, mais gêne plutôt la lecture en brunissant le papier.

### C. — Résultats

L'acide ribonucléique donne cette coloration d'un « vieux rose » caractéristique qu'on obtient également avec les pentoses. Cette réaction permet l'identification des acides nucléiques à ribose, en présence d'acides à désoxyribose, avec lesquels elle donne une coloration beige rosé « chamois » très faible, même lorsqu'ils sont en forte concentration.

Nos échantillons d'acide désoxyribonucléique n'ont pas donné la réaction caractéristique d'un pentose.

## CONCLUSIONS DU CHAPITRE II

Les échantillons que nous utilisons comportent donc bien séparément les deux catégories d'acides nucléiques, au moins dans la limite de sensibilité des techniques employées.

La précision relative de la nature des acides nucléiques utilisés, jointe aux tests de croissance définis, nous permettent de compléter les travaux d'Ugata et d'obtenir les résultats qui font l'objet du chapitre suivant.

# CHAPITRE III

## INFLUENCE DES ACIDES NUCLÉIQUES SUR LA CROISSANCE DES CULTURES DE « GLAUCOMA PIRIFORMIS »

Nous étudions dans ce chapitre l'influence qu'exercent sur la croissance de *Glaucoma piriformis* les acides du type ribo et désoxyribonucléique, ajoutés au milieu de culture, isolément ou simultanément, afin de réaliser des concentrations absolues et relatives, variables.

Le milieu de base que nous employons a une composition voisine de celle indiquée par Lwoff, et nous le préparons en prenant les précautions antérieurement indiquées.

| | | |
|---|---|---|
| Peptone 5 C | ..... | 10 g. |
| ClNa | ..... | 1 g. |
| Eau distillée | ..... q. s. | 1.000 cm³ |
| Lessive de soude à 10 p. 100 | .. q. s. | pH = 7,00. |

Dans le milieu ainsi préparé, nous faisons dissoudre, à la température de 60° C., l'acide nucléique choisi, en rajustant le pH à la neutralité. Tous les milieux sont répartis par prise de 5 cm³ en tube Pyrex de 16 mm., et stérilisés vingt minutes à 115-120° C.

Les ensemencements sont faits à partir d'une souche entretenue sur milieu peptone, afin d'éviter les perturbations qui pourraient provenir de l'inoculum. La même souche, homogénéisée par agitation, nous sert à ensemencer, à l'aide de la même pipette, quatre tubes témoins et quatre tubes réactions avec une goutte dans chacun d'eux. Des essais de stérilité sont régulièrement effectués sur bouillon à 37° C. Les tubes dans lesquels une pollution est signalée, sont rejetés.

Les résultats acquis en utilisant ce protocole opératoire sont groupés dans des tableaux que nous commentons.

## I. — INFLUENCE D'UN ACIDE DU TYPE « RIBONUCLÉIQUE » SUR LA CROISSANCE DES CULTURES DE *GLAUCOMA PIRIFORMIS* (tableaux V, VI et VII).

Les concentrations de 10, 40 et 100 mg. dans 100 cm³ sont étudiées. Au taux de 10 mg., on note seulement un léger retard de croissance jusqu'au sixième jour, avec retard d'un jour du maximum du « coefficient de croissance collective » par rapport au témoin. A 40 mg., après un retard de début plus faible que précédemment, on assiste à une augmentation numérique qui

TABLEAU V

INFLUENCE DE L'ACIDE TYPE « RIBONUCLÉIQUE » SUR LA CROISSANCE DE « GLAUCOMA PIRIFORMIS ».

(Concentration de 10 mg. dans 100 cm³ de milieu peptone.)

| | Age jours | Nombre (mm³) | L | l | $\frac{L \times l}{10 - l}$ | $\frac{L \times l}{10 \quad l} \times N$ (*) | Moyne num. (**) | Rapport moyenne numérique A/T | Rapport coeffic. (*) A/T |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 3 | 56,5 | 2,47 | 1,44 | 0,41 | 23,1 | | | |
| | 4 | **84,3** | 2,43 | 1,22 | 0,33 | **27,8** | | | |
| Témoin | 6 | **79,0** | 2,12 | 1,03 | 0,24 | 19,0 | 88,4 | » | » |
| | 8 | **102,0** | 1,82 | 0,94 | 0,18 | 18,3 | | | |
| | 11 | 52,2 | 1,27 | 0,72 | 0,09 | 4,7 | | | |
| | 3 | 29,2 | 2,71 | 1,55 | 0,49 | 14,3 | | | |
| A | 4 | 54,0 | 2,68 | 1,45 | 0,45 | 24,3 | | | |
| 10 mg. | 6 | **79,0** | 2,51 | 1,15 | 0,32 | **25,3** | 84,2 | 0,95 | 0,91 |
| 100 cm³ | 8 | **89,8** | 2,13 | 1,11 | 0,26 | 23,3 | | | |
| | 11 | **83,9** | 1,71 | 0,94 | 0,17 | 14,3 | | | |
| | 4 | 25,9 | 2,30 | 1,39 | 0,37 | 9,6 | | | |
| | 6 | **78,8** | 2,47 | 1,18 | 0,33 | **25,9** | | | |
| Témoin | 8 | **82,1** | 2,07 | 1,09 | 0,25 | 20,5 | 80,6 | » | » |
| | 11 | **81,0** | 1,94 | 0,99 | 0,21 | 17,0 | | | |
| | 4 | 10,1 | 2,43 | 1,51 | 0,43 | 4,3 | | | |
| A | 6 | 59,0 | 2,56 | 1,21 | 0,35 | 20,1 | | | |
| 10 mg. | 8 | **86,8** | 2,49 | 1,29 | 0,36 | **31,2** | 85,1 | 1,05 | 1,20 |
| 100 cm³ | 11 | **83,4** | 2,00 | 1,02 | 0,22 | 17,3 | | | |

A = Acide ribonucléique.

(*) Le coefficient de croissance collective maximum est en caractère gras.

(**) La moyenne numérique correspond à la concentration maximum par millimètre cube de culture, et est obtenue en faisant la moyenne entre les chiffres correspondant au maximum, et en caractère gras.

a pour conséquence une augmentation parallèle du « coefficient de croissance collective » maximum, lequel atteint sa valeur en même temps que le témoin. Le « coefficient de croissance individuelle » est inchangé.

Des résultats de même nature, mais plus intenses, sont obtenus pour un taux de 100 mg. dans 100 cm³. A cette concentration, en effet, si le retard de début est peu net, par contre, le rapport du « coefficient de croissance collective maximum » du milieu acide ribonucléique au coefficient de même nom du milieu témoin est de l'ordre de 1,6. Notons le parallélisme entre le rapport des moyennes numériques et celui des « coefficients de croissance collective » maximum.

TABLEAU VI

INFLUENCE DE L'ACIDE TYPE « RIBONUCLÉIQUE » SUR LA CROISSANCE DE « GLAUCOMA PIRIFORMIS ».

(Concentration de 40 mg. dans 100 cm³ de milieu peptone.)

| | AGE JOURS | NOMBRE (MM³) | L | l | $\frac{L \times l}{10 - l}$ | $\frac{L \times l}{10 - l} \times N$ (*) | MOYNE NUM. (**) | RAPPORT MOYENNE NUMÉRIQUE A/T | RAPPORT COEFFIC. (*) A/T |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Témoin | 4 | 39,5 | 2,80 | 1,48 | 0,48 | 19,0 | 69,7 | » | » |
| | 6 | **69,7** | 2,91 | 1,32 | 0,46 | **32,1** | | | |
| | 8 | **75,2** | 2,52 | 1,26 | 0,36 | 27,1 | | | |
| | 11 | **62,4** | 1,80 | 0,86 | 0,17 | 10,6 | | | |
| A 40 mg. / 100 cm³ | 4 | 22,7 | 2,69 | 1,61 | 0,51 | 11,6 | 94,9 | 1,36 | 1,20 |
| | 6 | **102,2** | 2,66 | 1,27 | 0,38 | **38,8** | | | |
| | 8 | **95,1** | 2,66 | 1,20 | 0,37 | 35,2 | | | |
| | 11 | **87,6** | 2,05 | 0,91 | 0,20 | 17,5 | | | |
| Témoin | 4 | 34,0 | 2,89 | 1,54 | 0,52 | 17,7 | 71,7 | » | » |
| | 6 | 54,5 | 2,85 | 1,26 | 0,41 | 22,3 | | | |
| | 8 | **71,7** | 2,53 | 1,16 | 0,33 | **23,7** | | | |
| | 11 | **71,8** | 1,86 | 0,89 | 0,18 | 12,9 | | | |
| A 40 mg. / 100 cm³ | 4 | 52,8 | 2,80 | 1,60 | 0,53 | 28,0 | 96,8 | 1,35 | 1,6 |
| | 6 | **92,0** | 2,76 | 1,30 | 0,41 | **37,7** | | | |
| | 8 | **103,0** | 2,70 | 1,22 | 0,36 | 37,1 | | | |
| | 11 | **95,4** | 2,13 | 0,97 | 0,22 | 19,9 | | | |

A = Acide ribonucléique.

(*) Le coefficient de croissance collective maximum est en caractère gras.

(**) La moyenne numérique correspond à la concentration maximum par millimètre cube de culture, et est obtenue en faisant la moyenne entre les chiffres correspondant au maximum, et en caractère gras.

TABLEAU VII

INFLUENCE DE L'ACIDE TYPE « RIBONUCLÉIQUE » SUR LA CROISSANCE DE « GLAUCOMA PIRIFORMIS ».

(Concentration de 100 mg. dans 100 cm³ de milieu peptone.)

| | AGE JOURS | NOMBRE (MM³) | L | l | $\frac{L \times l}{10 - l}$ | $\frac{L \times l}{10 - l} \times N$ (*) | MOYNE NUM. (**) | RAPPORT MOYENNE NUMÉRIQUE A/T | RAPPORT COEFFIC. (*) A/T |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Témoin | 4 | 39,4 | 2,77 | 1,50 | 0,49 | 19,1 | 77,3 | » | » |
| | 6 | **77,5** | 2,71 | 1,18 | 0,36 | **27,9** | | | |
| | 8 | **77,5** | 2,51 | 1,05 | 0,29 | 22,5 | | | |
| | 11 | **76,8** | 1,86 | 0,97 | 0,20 | 15,4 | | | |
| A 100 mg. / 100 cm³ | 4 | 25,2 | 2,58 | 1,44 | 0,43 | 10,8 | 124,6 | 1,60 | 1,53 |
| | 6 | **118,8** | 2,78 | 1,11 | 0,35 | 41,6 | | | |
| | 8 | **115,5** | 2,74 | 1,18 | 0,37 | **42,7** | | | |
| | 11 | **139,6** | 2,15 | 0,97 | 0,23 | 32,1 | | | |
| Témoin | 4 | 57,2 | 2,54 | 1,49 | 0,44 | 25,2 | 70,1 | » | » |
| | 6 | **71,9** | 2,66 | 1,25 | 0,38 | **27,3** | | | |
| | 8 | **75,5** | 2,42 | 1,04 | 0,25 | 18,9 | | | |
| | 11 | **65,0** | 1,97 | 0,94 | 0,20 | 13,0 | | | |
| A 100 mg. / 100 cm³ | 4 | 42,8 | 2,78 | 1,65 | 0,55 | 23,5 | 117,9 | 1,68 | 1,78 |
| | 6 | **101,5** | 2,90 | 1,26 | 0,48 | **48,7** | | | |
| | 8 | **91,0** | 2,75 | 1,25 | 0,39 | 35,5 | | | |
| | 11 | **161,4** | 2,09 | 0,95 | 0,22 | 35,5 | | | |

A = Acide ribonucléique.

(*) Le coefficient de croissance collective maximum est en caractère gras.

(**) La moyenne numérique correspond à la concentration maximum par millimètre cube de culture, et est obtenue en faisant la moyenne entre les chiffres correspondant au maximum, et en caractère gras.

## II. — INFLUENCE DE L'ACIDE DU TYPE « DÉSOXYRIBONUCLÉIQUE » SUR LA CROISSANCE DES CULTURES DE *GLAUCOMA PIRIFORMIS*.

Les concentrations étudiées sont de 40, 75, 80 et 100 mg., et les résultats sont indiqués aux tableaux VIII et IX.

Pour une concentration de 100 mg. dans 100 cm³, on assiste à un retard considérable du moment auquel la culture « part ». Lors des premiers essais que nous avons effectués à cette concentration, ce retard nous a fait croire à une

stérilisation spontanée des cultures que nous attribuions à des facteurs tels que température ambiante, tubes lavés au mélange sulfo-chromique et insuffisamment rincés, pipette d'ensemencement trop chauffée. Des expériences répétées nous

TABLEAU VIII

INFLUENCE DE L'ACIDE TYPE « DÉSOXYRIBONUCLÉIQUE » SUR LA CROISSANCE DE « GLAUCOMA PIRIFORMIS ».

(Concentration de 40 mg. dans 100 cm³ de milieu peptone.)

| | AGE JOURS | NOMBRE (MM³) | L | I | $\frac{L \times I}{10 - I}$ | $\frac{L \times I}{10 - I} \times N$ (*) | MOYNE NUM. (**) | RAPPORT MOYENNE NUMÉRIQUE D/T | RAPPORT COEFFIC. (*) D/T |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Témoin | 4 | 48,2 | 3,00 | 1,66 | 0,59 | 28,4 | | | |
| | 6 | **81,3** | 2,80 | 1,26 | 0,40 | **32,5** | | | |
| | 8 | **84,8** | 2,57 | 1,09 | 0,34 | 28,7 | 82,0 | » | » |
| | 10 | **80,0** | 2,20 | 1,04 | 0,25 | 20,0 | | | |
| | 12 | 48,6 | 1,81 | 0,86 | 0,17 | 8,2 | | | |
| D 40 mg. 100 cm³ | 4 | 7,5 | 2,72 | 1,73 | 0,54 | 4,0 | | | |
| | 6 | 28,2 | 2,69 | 1,46 | 0,39 | 11,0 | | | |
| | 8 | **61,4** | 2,89 | 1,39 | 0,47 | **28,8** | 76,2 | 0,92 | 0,87 |
| | 10 | **73,9** | 2,67 | 1,17 | 0,35 | 26,8 | | | |
| | 12 | **93,4** | 2,17 | 1,01 | 0,24 | 22,4 | | | |
| Témoin | 4 | 28,4 | 2,93 | 1,78 | 0,63 | 17,8 | | | |
| | 6 | **84,1** | 2,81 | 1,21 | 0,37 | **31,1** | | | |
| | 8 | **76,0** | 2,45 | 1,07 | 0,29 | 22,0 | 80,5 | » | » |
| | 10 | **87,6** | 2,24 | 1,10 | 0,27 | 23,6 | | | |
| | 12 | **74,6** | 1,66 | 0,78 | 0,14 | 10,4 | | | |
| D 40 mg. 100 cm³ | 4 | 3,4 | 2,69 | 1,53 | 0,48 | 1,6 | | | |
| | 6 | 24,6 | 2,82 | 1,36 | 0,52 | 12,8 | | | |
| | 8 | **68,4** | 2,98 | 1,25 | 0,42 | **29,1** | 76,3 | 0,94 | 0,93 |
| | 10 | **73,0** | 2,71 | 1,19 | 0,36 | 26,2 | | | |
| | 12 | **87,5** | 2,42 | 1,11 | 0,30 | 26,2 | | | |

D = Acide désoxyribonucléique.

(*) Le coefficient de croissance collective maximum est en caractère gras.

(**) La moyenne numérique correspond à la concentration maximum par millimètre cube de culture, et est obtenue en faisant la moyenne entre les chiffres correspondant au maximum, et en caractère gras.

ont conduit constamment au même résultat, et des souches considérées stériles et abandonnées ont commencé à pousser aux environs du quinzième jour.

## TABLEAU IX

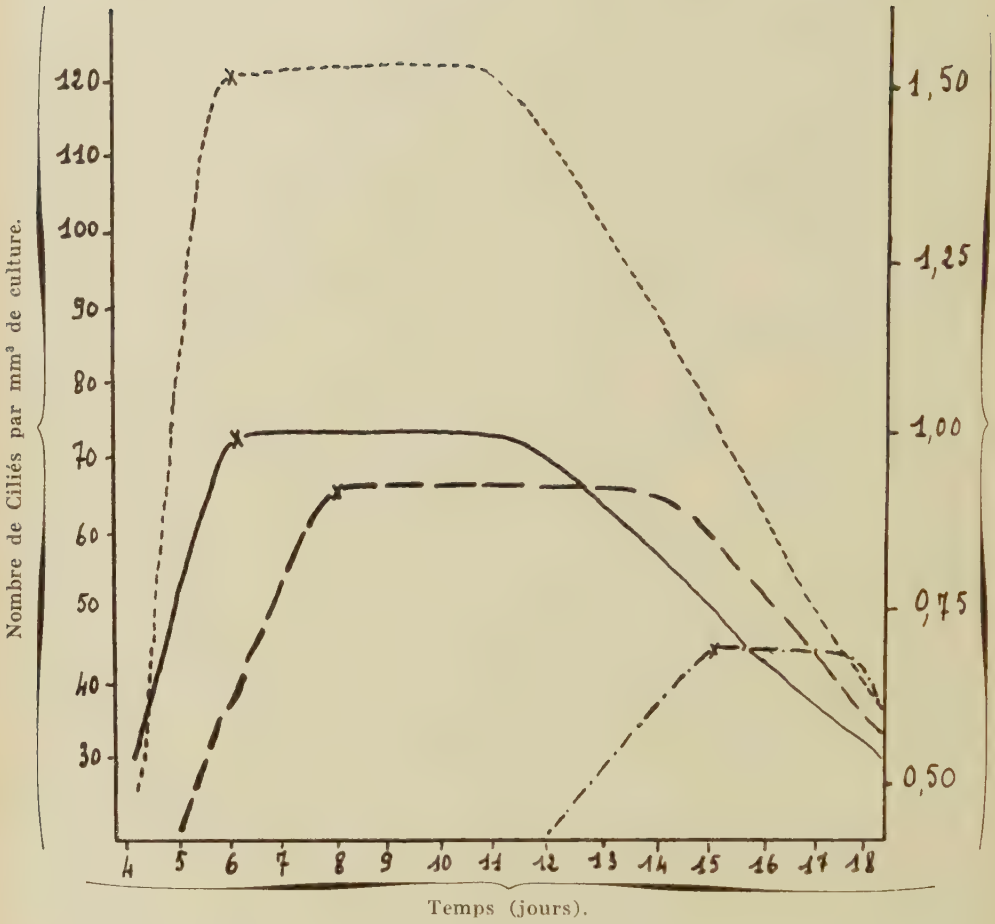
INFLUENCE DE L'ACIDE TYPE « DÉSOXYRIBONUCLÉIQUE » SUR LA CROISSANCE DE « GLAUCOMA PIRIFORMIS ».

| | AGE JOURS | NOMBRE (MM³) | L | 1 | $\frac{L \times 1}{10-1}$ | $\frac{L \times 1}{10-1} \times N$ (*) | MOYNE NUM. (**) | RAPPORT MOYENNE NUMÉRIQUE D/T | RAPPORT COEFFIC. (*) D/T |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Témoin | Développement normal de la culture. | | | | | | | | |
| D 100 mg. 100 cm³ | Les différentes cultures effectuées partent aux environs du douzième jour. | | | | | | | | |
| Témoin | 4 | 33,5 | » | » | » | » | 79,7 | » | » |
| | 5 | **73,5** | 2,77 | 1,16 | 0,36 | 26,4 | | | |
| | 6 | **80,4** | 2,79 | 1,09 | 0,34 | **27,3** | | | |
| | 7 | **88,2** | 1,60 | 1,94 | 0,26 | 22,9 | | | |
| | 8 | **76,0** | » | » | » | » | | | |
| | 9 | **78,3** | » | » | » | » | | | |
| D 75 mg. 100 cm³ | 8 | 18,9 | 2,63 | 1,37 | 0,41 | 7,7 | 65,0 | 0,81 | 0,72 |
| | 9 | 34,8 | 2,75 | 1,22 | 0,38 | 13,0 | | | |
| | 10 | **43,8** | 2,74 | 1,20 | 0,37 | 16,2 | | | |
| | 11 | **57,9** | 2,66 | 1,14 | 0,34 | **19,7** | | | |
| | 12 | **71,7** | 2,40 | 1,01 | 0,26 | 18,6 | | | |
| | 13 | **65,5** | » | » | » | » | | | |
| Témoin | 4 | 21,2 | 2,60 | 1,50 | 0,45 | 9,6 | 66,8 | » | » |
| | 5 | 31,5 | 2,83 | 1,19 | 0,38 | 12,0 | | | |
| | 6 | **66,6** | 2,78 | 1,16 | 0,36 | **24,0** | | | |
| | 7 | **69,6** | 2,62 | 1,02 | 0,29 | 20,2 | | | |
| | 8 | **64,2** | 2,48 | 1,03 | 0,28 | 18,0 | | | |
| D 80 mg. 100 cm³ | 13 | 11,5 | » | » | » | » | 34,5 | 0,51 | 0,66 |
| | 14 | **21,0** | 2,93 | 1,25 | 0,41 | 8,6 | | | |
| | 15 | **29,0** | 2,80 | 1,23 | 0,39 | 11,3 | | | |
| | 16 | **53,5** | 2,50 | 1,07 | 0,30 | **16,0** | | | |
| | 17 | Peu d'élémts | 2,40 | 1,07 | 0,28 | » | | | |

D = Acide désoxyribonucléique.

(*) Le coefficient de croissance collective maximum est en caractère gras.

(**) La moyenne numérique correspond à la concentration maximum par millimètre cube de culture, et est obtenue en faisant la moyenne entre les chiffres correspondant au maximum, et en caractère gras.




COURBE 3

ACTION DES DEUX TYPES D'ACIDE NUCLÉIQUE SUR LA CROISSANCE DE « GLAUCOMA PIRIFORMIS ».

——— Milieu témoin.
..... Milieu acide ribonucléique : 100 mg./100 cm³.
— — Milieu acide désoxyribonucléique : 40 mg./100 cm³.
. -.—. Milieu acide désoxyribonucléique : 100 mg./100 cm³.

Nous avons alors tenté des cultures sur des milieux de concentration moindre : au taux de 75, 80 mg. pour 100 cm³, la culture présente un retard de cinq à dix jours par rapport au témoin; la concentration numérique est inférieure, mais le coefficient de croissance individuelle inchangé. De par l'abaissement du nombre, le coefficient de croissance collective présente une valeur maximum inférieure à celle du témoin (rapport voisin de 0,6), qu'il atteint, et c'est ce qui constitue le fait le plus frappant, avec un retard de l'ordre de six jours par rapport au témoin.

Pour une concentration de 40 mg. dans 100 cm³, la culture « part » en même temps que le témoin, soit au quatrième jour, mais présente cependant un retard de croissance qui, pour ne pas être aussi manifeste que précédemment, n'en est pas moins réel et se traduit particulièrement dans la phase des concentrations numériques croissantes (entre le quatrième et le huitième jour).

Le graphique n° 3, en résumant de façon moyenne le résultat d'un certain nombre d'expériences, illustre de façon particulièrement nette l'action antagoniste qu'exercent sur la croissance de *Glaucoma piriformis* les deux types d'acides nucléiques : action favorisante de l'acide à ribose, et inhibitrice de l'acide à désoxyribose.

Cette étude doit être complétée par celle de la réaction du Cilié, lorsqu'il est mis en présence des deux acides nucléiques introduits simultanément dans son milieu de culture, mais dans un rapport variable.

## III. SENSIBILITÉ DE *GLAUCOMA PIRIFORMIS* A L'ACTION SIMULTANÉE DES DEUX TYPES D'ACIDES NUCLÉIQUES.

Pour apprécier la façon dont réagit le Cilié, on prépare des témoins contenant séparément les quantités d'acide ribo et désoxyribonucléique introduites simultanément dans les milieux d'expérimentation.

A une concentration de base de 80 mg. d'acide désoxyribonucléique, dont nos expériences précédentes ont montré l'intensité d'action inhibitrice, nous ajoutons des quantités croissantes d'acide ribonucléique : 25, 50 et 100 mg., telles que les rapports réalisés sont respectivement de : 3,2, 1,6 et 0,8. On complète cette gamme de concentration par un rapport de 0,25, obtenu en ajoutant à un milieu à 100 mg.

d'acide ribonucléique, 25 mg. d'acide désoxyribonucléique. Dans ces conditions, nous réalisons des mélanges variant entre deux concentrations extrêmes d'acides nucléiques isolés (80 mg. d'acide désoxyribonucléique, 100 mg. d'acide ribonucléique) dont nous avons signalé l'action opposée et particulièrement intense.

Pour mieux se rendre compte des variations de croissance correspondantes aux différents rapports des concentrations nucléiques, nous avons établi les courbes IV, V et VI, en considérant les moyennes rapportées aux témoins « peptone » des expériences résumées aux tableaux X, XI, XII et XIII, dont les résultats peuvent se résumer en disant qu'il y a somme des activités, avec cependant quelques particularités.

La courbe VI montre que le moment à partir duquel la culture commence à pousser présente un retard, pour un rapport acide à désoxyribose/acide à ribose, de 0,8. Ce retard est d'autant plus accusé que le rapport nucléique est plus élevé. Dans cet ordre d'idées, l'addition de 25 mg. d'acide ribonucléique à 80 mg. d'acide désoxyribonucléique (rapport 3,2) crée un retard supérieur à la valeur qu'il prend lorsque l'acide désoxyribonucléique agit seul. Ce résultat doit être rapproché de celui signalé lors de l'étude de l'action isolée de l'acide à ribose.

Les valeurs de ces retards se retrouvent dans l'établissement des coefficients de croissance collective maxima.

Les moyennes numériques et, parallèlement, les maxima des « coefficients de croissance collective » augmentent sensiblement pour prendre les valeurs caractéristiques des milieux « peptone » témoins, par addition de faibles quantités d'acide à ribose (25 mg.) à un milieu à 80 mg. d'acide nucléique à désoxyribose.

Le coefficient de croissance individuelle n'est pas modifié : sa valeur reste celle du témoin.

## TABLEAU X

SENSIBILITÉ DE « GLAUCOMA PIRIFORMIS » A L'ACTION SIMULTANÉE DES ACIDES DÉSOXYRIBO ET RIBONUCLÉIQUE AVEC PRÉDOMINANCE DU PREMIER.

| | Age jours | Nombre (mm³) | L | l | $\frac{L \times l}{10 - l}$ | $\frac{L \times l}{10 - l} \times N$ (*) | Moyne num. (**) | Rapport moyenne numérique A D / T T | Rapport coeffic. (*) A D / T T |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 4 | 27,6 | » | » | » | » | | | |
| | 5 | 50,5 | 2,75 | 1,25 | 0,39 | 19,7 | | | |
| Témoin | 6 | **88,9** | 2,81 | 1,19 | 0,38 | **33,7** | 76,6 | » | » |
| | 7 | **66,6** | 2,69 | 1,05 | 0,31 | 20,6 | | | |
| | 8 | **74,4** | » | » | » | » | | | |
| | 4 | 18,0 | » | » | » | » | | | |
| | 5 | 27,5 | » | » | » | » | | | |
| A | 6 | **94,5** | 2,77 | 1,17 | 0,36 | 34,0 | | | |
| 50 mg. | 7 | **101,4** | 2,80 | 1,12 | 0,35 | **35,5** | 100,9 | 1,44 | 1,05 |
| 100 cm³ | 8 | **97,8** | 2,77 | 1,07 | 0,33 | 32,3 | | | |
| | 9 | **109,8** | » | » | » | » | | | |
| | 10 | 81,0 | » | » | » | » | | | |
| | 4 | 23,1 | » | » | » | » | | | |
| | 5 | 40,5 | » | » | » | » | | | |
| A | 6 | **63,0** | » | » | » | » | | | |
| 25 mg. | 7 | **62,4** | 2,67 | 1,08 | 0,32 | 20,0 | 75,2 | 1,00 | 0,77 |
| 100 cm³ | 8 | **93,6** | 2,45 | 1,02 | 0,28 | **26,2** | | | |
| | 9 | **85,8** | 2,30 | 0,94 | 0,24 | 20,6 | | | |
| | 13 | 11,5 | » | » | » | » | | | |
| D | 14 | 12,5 | » | » | » | » | | | |
| 80 mg. | 15 | **39,5** | 2,68 | 1,23 | 0,37 | 14,6 | 47,6 | 0,62 | 0,49 |
| 100 cm³ | 16 | **49,5** | 2,63 | 1,14 | 0,34 | **16,8** | | | |
| | 17 | **54,0** | 2,40 | 1,08 | 0,29 | 15,6 | | | |
| | 16 | 15,0 | » | » | » | » | | | |
| A D | 17 | 32,0 | » | » | » | » | | | |
| 80 mg. D | 18 | 40,5 | 2,62 | 1,18 | 0,35 | 14,1 | | | |
| + | 19 | **67,0** | 2,70 | 1,16 | 0,35 | 23,4 | 71,5 | 0,93 | 0,71 |
| 25 mg. A | 20 | **78,0** | 2,67 | 1,04 | 0,31 | **24,1** | | | |
| 100 cm³ | 21 | peu d'élémts | 2,29 | 0,97 | 0,24 | » | | | |
| | 12 | 4,8 | » | » | » | » | | | |
| A D | 13 | 21,5 | » | » | » | » | | | |
| 80 mg. D | 14 | 40,0 | 2,93 | 1,26 | 0,42 | 16,8 | 80,5 | 1,05 | 0,81 |
| + | 15 | **72,0** | 2,75 | 1,21 | 0,38 | **27,4** | | | |
| 50 mg. A | 16 | **89,0** | 2,52 | 1,07 | 0,30 | 26,7 | | | |
| 100 cm³ | | | | | | | | | |

A = Acide ribonucléique.
D = Acide désoxyribonucléique.

(*) Le coefficient de croissance collective maximum est en caractère gras.

(**) La moyenne numérique correspond à la concentration maximum par millimètre cube de culture, et est obtenue en faisant la moyenne entre les chiffres correspondant au maximum, et en caractère gras.

## TABLEAU XI

SENSIBILITÉ DE « GLAUCOMA PIRIFORMIS » A L'ACTION SIMULTANÉE DES ACIDES DÉSOXYRIBO ET RIBONUCLÉIQUE AVEC PRÉDOMINANCE DU PREMIER

| | Age jours | Nombre (mm³) | L | l | $\frac{L \times l}{10 - l}$ | $\frac{L \times l}{10 - l} \times N$ (*) | Moyne num. (**) | Rapport moyenne numérique A D / T T | Rapport moyenne numérique A D / T | Rapport coeffic. (*) A D / T T | Rapport coeffic. (*) A D / T |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Témoin | 4 | 21,2 | » | » | » | » | 66,8 | » | | » | |
| | 5 | 31,5 | 2,83 | 1,19 | 0,38 | 12,0 | | | | | |
| | 6 | **66,6** | 2,78 | 1,16 | 0,36 | **24,0** | | | | | |
| | 7 | **69,6** | 2,62 | 1,02 | 0,29 | 20,2 | | | | | |
| | 8 | **64,2** | » | » | » | » | | | | | |
| A 25 mg. / 100 cm³ | 4 | 21,6 | » | » | » | » | 71,4 | 1,06 | | 1,05 | |
| | 5 | 30,0 | » | » | » | » | | | | | |
| | 6 | **64,2** | 2,77 | 1,23 | 0,38 | 24,4 | | | | | |
| | 7 | **76,8** | 2,72 | 1,09 | 0,33 | **25,3** | | | | | |
| | 8 | **84,0** | 2,49 | 1,04 | 0,29 | 24,4 | | | | | |
| | 9 | **60,6** | » | » | » | » | | | | | |
| A 50 mg. / 100 cm³ | 4 | 29,7 | » | » | » | » | 90,9 | 1,36 | | 1,49 | |
| | 5 | 67,5 | 2,82 | 1,17 | 0,37 | 25,0 | | | | | |
| | 6 | **85,2** | 2,98 | 1,24 | 0,42 | **35,8** | | | | | |
| | 7 | **86,4** | 3,02 | 1,15 | 0,39 | 33,7 | | | | | |
| | 8 | **98,4** | 2,75 | 1,11 | 0,34 | 33,4 | | | | | |
| | 9 | **93,6** | » | » | » | » | | | | | |
| D 80 mg. / 100 cm³ | 13 | 11,5 | » | » | » | » | 34,3 | 0,51 | | 0,66 | |
| | 14 | **21,0** | » | » | » | » | | | | | |
| | 15 | **29,0** | 2,80 | 1,23 | 0,39 | 11,3 | | | | | |
| | 16 | **53,5** | 2,50 | 1,07 | 0,30 | **16,0** | | | | | |
| | 17 | Peu d'élémts | » | » | » | » | | | | | |
| A D 80 mg. D + 25 mg. A / 100 cm³ | 17 | 6,5 | » | » | » | » | 73,5 | 1,10 | | 1,12 | |
| | 18 | 21,5 | » | » | » | » | | | | | |
| | 19 | 48,0 | » | » | » | » | | | | | |
| | 20 | **68,0** | 2,74 | 1,18 | 0,37 | 25,1 | | | | | |
| | 21 | **79,0** | 2,65 | 1,14 | 0,34 | **26,9** | | | | | |
| | 22 | Peu d'élémts | » | » | » | » | | | | | |
| A D 80 mg. D + 50 mg. A / 100 cm³ | 12 | » | » | » | » | » | 87,2 | 1,30 | | 1,37 | |
| | 13 | 41,0 | » | » | » | » | | | | | |
| | 14 | 36,0 | 2,70 | 1,23 | 0,37 | 13,3 | | | | | |
| | 15 | **89,0** | 2,74 | 1,21 | 0,37 | **32,9** | | | | | |
| | 16 | **85,5** | 2,64 | 1,18 | 0,35 | 29,9 | | | | | |

A = Acide ribonucléique.
D = Acide désoxyribonucléique.

(*) Le coefficient de croissance collective maximum est en caractère gras.

(**) La moyenne numérique correspond à la concentration maximum par millimètre cube de culture, et est obtenue en faisant la moyenne entre les chiffres correspondant au maximum, et en caractère gras.

## TABLEAU XII

SENSIBILITÉ DE « GLAUCOMA PIRIFORMIS » A L'ACTION SIMULTANÉE DES ACIDES DÉSOXYRIBO ET RIBONUCLÉIQUE AVEC PRÉDOMINANCE DE CE DERNIER.

| | AGE JOURS | NOMBRE (MM³) | L | l | $\frac{L \times l}{10 - l}$ | $\frac{L \times l}{10 - l} \times N$ (*) | MOYNE NUM. (**) | RAPPORT MOYENNE NUMÉRIQUE A/T D/T A/T D/T | RAPPORT COEFFIC. (*) A/T D/T A/T D/T |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Témoin | 4 | » | » | » | » | » | 66,4 | » | » |
| | 5 | **76,2** | 2,78 | 1,05 | 0,32 | **24,4** | | | |
| | 6 | **69,6** | 2,71 | 1,08 | 0,23 | 16,0 | | | |
| | 7 | **53,4** | » | » | » | » | | | |
| | 8 | 49,2 | » | » | » | » | | | |
| A 100 mg. / 100 cm³ | 4 | » | » | » | » | » | 79,1 | 1,19 | 1,30 |
| | 5 | **88,2** | 2,81 | 1,14 | 0,36 | **31,8** | | | |
| | 6 | **76,8** | 2,41 | 1,12 | 0,30 | 23,0 | | | |
| | 7 | **72,2** | » | » | » | » | | | |
| | 8 | 57,6 | » | » | » | » | | | |
| D 25 mg. / 100 cm³ | 5 | **58,2** | » | » | » | » | 63,4 | 0,95 | 1,00 |
| | 6 | **54,6** | 2,88 | 1,24 | 0,40 | 21,8 | | | |
| | 7 | **66,0** | 2,80 | 1,18 | 0,37 | **24,4** | | | |
| | 8 | **75,6** | 2,25 | 1,01 | 0,25 | 18,9 | | | |
| | 9 | **63,0** | » | » | » | » | | | |
| A D 100 mg. A + 25 mg. D / 100 cm³ | 4 | » | » | » | » | » | 86,0 | 1,29 | 1,15 |
| | 5 | **84,6** | 2,94 | 1,16 | 0,38 | **32,1** | | | |
| | 6 | **81,0** | 2,85 | 1,11 | 0,35 | 28,3 | | | |
| | 7 | **103,8** | 2,26 | 1,11 | 0,28 | 29,0 | | | |
| | 8 | **81,6** | » | » | » | » | | | |
| | 9 | **79,2** | » | » | » | » | | | |
| D 80 mg. / 100 cm³ | 7 | 24,6 | 2,85 | 1,32 | 0,43 | 10,6 | 45,4 | 0,68 | 0,71 |
| | 8 | **42,6** | 2,79 | 1,30 | 0,41 | **17,5** | | | |
| | 9 | **43,2** | 2,69 | 1,09 | 0,32 | 13,8 | | | |
| | 10 | **46,0** | » | » | » | » | | | |
| | 11 | **49,8** | » | » | » | » | | | |
| A D 100 mg. A + 80 mg. D / 100 cm³ | 5 | 55,2 | » | » | » | » | 74,6 | 1,12 | 1,22 |
| | 6 | 49,2 | 2,79 | 1,20 | 0,38 | 18,7 | | | |
| | 7 | **67,8** | 2,69 | 1,12 | 0,34 | 23,0 | | | |
| | 8 | **88,5** | 2,59 | 1,16 | 0,34 | **30,0** | | | |
| | 9 | **70,8** | » | » | » | » | | | |
| | 10 | **71,5** | » | » | » | » | | | |

A = Acide ribonucléique.
D = Acide désoxyribonucléique.

(*) Le coefficient de croissance collective maximum est en caractère gras.

(**) La moyenne numérique correspond à la concentration maximum par millimètre cube de culture, et est obtenue en faisant la moyenne entre les chiffres correspondant au maximum, et en caractère gras.

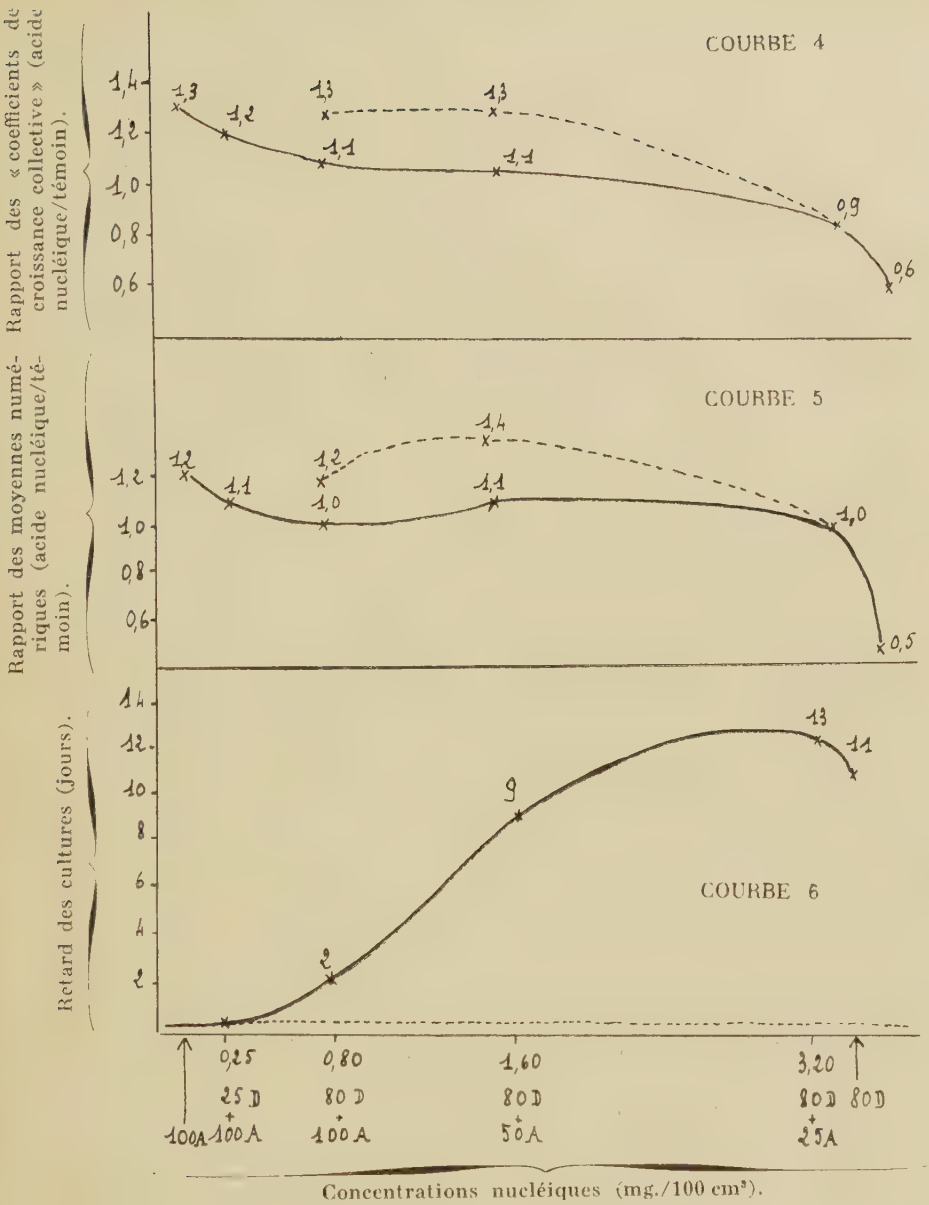
## TABLEAU XIII

SENSIBILITÉ DE « GLAUCOMA PIRIFORMIS » A L'ACTION SIMULTANÉE DES ACIDES DÉSOXYRIBO ET RIBONUCLÉIQUE AVEC PRÉDOMINANCE DE CE DERNIER.

| | Age jours | Nombre (mm³) | L | l | $\frac{L \times l}{10-l}$ | $\frac{L \times l}{10-l} \times N$ (*) | Moyne num. (**) | Rapport moyenne numérique A D / T T | Rapport moyenne numérique A D / T | Rapport coeffic. (*) A D / T T | Rapport coeffic. (*) A D / T |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 4 | 28,2 | » | » | » | » | | | | | |
| | 5 | 30,5 | 2,89 | 1,22 | 0,40 | 12,2 | | | | | |
| Témoin | 6 | **88,9** | 2,76 | 1,16 | 0,36 | **32,0** | 76,0 | » | | » | |
| | 7 | **75,6** | 2,79 | 1,05 | 0,32 | 24,2 | | | | | |
| | 8 | **63,6** | » | » | » | » | | | | | |
| | 4 | 14,4 | » | » | » | » | | | | | |
| A | 5 | 38,5 | » | » | » | » | | | | | |
| 100 mg. | 6 | **94,5** | » | » | » | » | 91,7 | 1.20 | | 1.26 | |
| 100 cm³ | 7 | **87,6** | 2,92 | 1,18 | 0,39 | 34,1 | | | | | |
| | 8 | **106,4** | 2,80 | 1,19 | 0,38 | **40,4** | | | | | |
| | 9 | **78,6** | 2,44 | 1,04 | 0,28 | 22,0 | | | | | |
| | 4 | 25,5 | » | » | » | » | | | | | |
| D | 5 | 32,5 | 2,86 | 1,26 | 0,41 | 13,3 | | | | | |
| 25 mg. | 6 | **68,4** | 2,70 | 1,26 | 0,34 | **23,2** | 63,4 | 0,83 | | 0,72 | |
| 100 cm³ | 7 | **67,2** | 2,74 | 1,15 | 0,31 | 20,8 | | | | | |
| | 8 | **54,6** | » | » | » | » | | | | | |
| A D | 4 | 26,4 | » | » | » | » | | | | | |
| 100 mg. A | 5 | **63,0** | » | » | » | » | | | | | |
| + | 6 | **63,0** | » | » | » | » | 72,2 | 0,95 | | 0,93 | |
| 25 mg. D | 7 | **75,0** | 2,78 | 1,15 | 0,36 | 26,0 | | | | | |
| 100 cm³ | 8 | **88,2** | 2,66 | 1,14 | 0,34 | **30,0** | | | | | |
| | 9 | **72,0** | 2,30 | 1,00 | 0,25 | 18,0 | | | | | |
| D | 11 | 22,5 | 2,92 | 1,50 | 0,51 | 11,5 | | | | | |
| 80 mg. | 12 | **37,5** | 3,04 | 1,43 | 0,50 | **18,7** | | | | | |
| 100 cm³ | 13 | **34,0** | 2,63 | 1,28 | 0,38 | 12,9 | 38,1 | 0,50 | | 0,58 | |
| | 14 | **43,0** | » | » | » | » | | | | | |
| A D | 7 | 5,4 | » | » | » | » | | | | | |
| 100 mg. A | 8 | 20,4 | » | » | » | » | | | | | |
| + | 9 | 40,8 | » | » | » | » | | | | | |
| 80 mg. D | 10 | **71,5** | 2,62 | 1,18 | 0,31 | 22,1 | 72,3 | 0,95 | | 1,05 | |
| 100 cm³ | 11 | **86,4** | 2,74 | 1,25 | 0,39 | **33,7** | | | | | |
| | 12 | **60,0** | 2,61 | 1,09 | 0,32 | 19,2 | | | | | |

A = Acide ribonucléique.
D = Acide désoxyribonucléique.

(*) Le coefficient de croissance collective maximum est en caractère gras.
(**) La moyenne numérique correspond à la concentration maximum par millimètre cube de culture, et est obtenue en faisant la moyenne entre les chiffres correspondant au maximum, et en caractère gras.




COURBES DE CROISSANCE DU CILIÉ « GLAUCOMA PIRIFORMIS » EN MILIEUX A RAPPORT ACIDE RIBONUCLÉIQUE/ACIDE DÉSOXYRIBONUCLÉIQUE VARIABLE.

Les traits en « pleins » correspondent aux mélanges : acide à ribose plus acide à désoxyribose; les traits en « pointillés » correspondent à l'acide ribonucléique agissant isolément à la concentration du mélange.

Les valeurs portées sur ces courbes correspondent aux moyennes des résultats obtenus.

## CONCLUSIONS DU CHAPITRE III

1° Cette série d'expériences tend à démontrer un antagonisme, entre l'action des deux catégories d'acides nucléiques, sur la croissance de *Glaucoma piriformis :* action favorisante de l'acide à ribose, inhibitrice de l'acide à désoxyribose, sur la vitesse de culture et la concentration numérique maxima, sans modification du coefficient de croissance individuelle.

L'acide nucléique à ribose présente la particularité de déterminer un très léger retard de croissance ne se manifestant qu'au moment même où la culture commence à pousser, et d'autant plus net que la concentration est plus faible.

2° L'action simultanée des deux types d'acide nucléique apparaît comme la somme de l'effet qu'ils produisent isolément.

De cette étude ressort, en outre, la particularité intéressante de l'intensification de l'activité des faibles concentrations d'acide à ribose par l'acide à désoxyribose. Ceci se traduit par un retard accru du moment où la souche commence à pousser et atteint la valeur maximum du « coefficient de croissance collective », ainsi que par une action compensatrice vis-à-vis de la valeur maximum du nombre de Ciliés par millimètre cube.

# CHAPITRE IV

## INTERPRÉTATION DES MODALITÉS D'ACTION DES ACIDES NUCLÉIQUES SUR LE DÉVELOPPEMENT DE « GLAUCOMA PIRIFORMIS »

Dans ce chapitre, nous essaierons d'interpréter les modifications déterminées par les acides nucléiques dans les cultures de *Glaucoma piriformis* en recherchant les facteurs qui peuvent être à leur origine.

Dans ce but, après avoir discuté quelques points relatifs au mode opératoire, nous rapprocherons nos résultats de ceux obtenus par les auteurs étudiant l'intervention expérimentale et pathologique des acides nucléiques dans le métabolisme cellulaire.

Nous serons ainsi en mesure, non point d'affirmer comment les acides nucléiques interviennent dans la croissance de *Glaucoma piriformis*, mais seulement d'émettre une hypothèse sur leur mode d'action.

### I. — FACTEURS EN RAPPORT AVEC LA PRÉPARATION DU MILIEU

Au cours de la préparation des milieux, les acides nucléiques risquent de subir une hydrolyse et on peut se demander si les modifications résultantes ne permettraient pas d'expliquer les résultats. En outre, connaissant la sensibilité de *Glaucoma* au pH et au rH, il y a lieu de tenir compte des variations éventuelles de ces valeurs.

#### A. — Hydrolyse des acides nucléiques

L'hydrolyse des acides nucléiques n'est intense qu'en dehors de la neutralité : Grégoire [103], pour isoler les nucléotides (premiers termes de dégradation des acides nucléiques), fait agir l'acide sulfurique à 2 p. 100 pendant deux heures à

110° C., et pour séparer les bases pyrimidiques, fait durer l'action de l'acide sulfurique à 25 p. 100 quatre heures à la température de 160-180° C. Dans nos expériences, l'intervention de la température de stérilisation est modérée par la neutralité à laquelle nous ajustons nos milieux et, en comparant nos conditions expérimentales à celles de Grégoire, la dégradation des acides nucléiques employés semble réduite.

Nous avons cependant vérifié, à l'aide des méthodes chimiques que nous avons décrites, que cette hydrolyse n'est pas complète : la solution peptonée d'acide nucléique stérile est amenée à pH = 3 par l'acide chlorhydrique au demi, ou traitée par un égal volume d'acide trichloracétique à 20 p. 100, à la température de 0° C. Le milieu acide obtenu est agité avec un égal volume d'alcool à 95° C. (toujours en opérant à la température de 0° C.), et le précipité recueilli par centrifugation est lavé à l'alcool, puis à l'éther et identifié : la réaction de Dische à la diphénylamine pour l'acide désoxyribonucléique, notre méthode personnelle, application de la réaction colorée de Partridge pour l'acide ribonucléique se sont toujours montrées positives dans les milieux respectifs, tandis qu'elles restent négatives chez les témoins.

Nous venons de montrer que l'hydrolyse des acides nucléiques est incomplète, mais non pas son absence. Les modifications apportées par une hydrolyse partielle doivent être considérées. C'est pour réfuter ces objections que nous avons, dans quelques essais, substitué à l'autoclave la filtration sur bougie Chamberland 5 $L^3$. Les résultats ont été du même ordre.

La stérilisation ne semble donc apporter aucune perturbation. Le phénomène d'hydrolyse qui, à priori, risque d'être considéré, ne paraît pas constituer un inconvénient primordial, car il est difficile d'admettre qu'une molécule aussi volumineuse que celle des acides nucléiques soit métabolisée intégralement. Certains expérimentateurs ont même montré que les acides dépolymérisés sont plus actifs que les macromolécules.

### B. — Valeur du pH et du rH des milieux

Au cours de la préparation des milieux, l'hydrolyse ne doit pas être seule considérée. Il faut aussi tenir compte des variations de pH et de rH que risque de déterminer l'introduction des acides nucléiques dans les milieux peptones, et auxquelles *Glaucoma* est extrêmement sensible. Les mesures ont été effectuées dans différents tubes affectés à chaque série d'expé-

riences. Tous les milieux ont présenté les mêmes valeurs, ce que nous résumons très simplement en disant : pH voisin de 7,1, rH compris entre 28 et 29.

La possibilité d'intervention de ces facteurs doit donc être écartée. Deux interprétations sont possibles : les acides nucléiques agissent soit en tant que facteur chimique, soit en tant que facteur métabolique.

## II. — INTERVENTION DES ACIDES NUCLÉIQUES EN TANT QUE FACTEURS CHIMIQUES DANS LA CROISSANCE DE *GLAUCOMA PIRIFORMIS*.

Selon cette hypothèse, pour concevoir l'action favorisante que nous avons obtenue avec l'acide ribonucléique, il suffit d'assimiler ce corps à un agent de nutrition. L'inhibition déterminée par l'acide désoxyribonucléique rappelle un phénomène de toxicité. Cette interprétation ne permet pas d'expliquer certaines particularités constatées :

1° L'importance des concentrations actives : valeur de l'ordre de 1 mg. par $cm^3$, considérable par rapport au poids des Ciliés.

2° Le laps de temps que met la culture pour commencer à pousser. Période d'autant plus longue que la concentration est plus élevée. A la limite, on pourrait supposer un phénomène d'accoutumance; l'expérience montre qu'il n'existe pas : le repiquage d'une culture au maximum de sa croissance d'un milieu acide désoxyribonucléique 80 mg./100 $cm^3$, dans un milieu de même composition présente la même intensité d'inhibition. Inversement, la souche entretenue sur milieu inhibiteur, repiquée sur milieu peptone témoin, se développe normalement.

3° La suppression par l'acide ribonucléique de l'action défavorable qu'exerce l'acide désoxyribonucléique sur la croissance de *Glaucoma piriformis*.

4° Le retour à la normale numérique d'une culture inhibée par 80 mg. d'acide désoxyribonucléique grâce à une faible dose (25 mg./100 $cm^3$) d'acide ribonucléique qui, ajoutée seule au milieu, est sans action.

L'hypothèse d'une toxicité est en désaccord avec les faits et doit être rejetée. Ceci n'est pas étonnant vu l'importance des acides nucléiques comme constituants cellulaires.

## III. — INTERVENTION DES ACIDES NUCLÉIQUES EN TANT QUE FACTEURS MÉTABOLIQUES DANS LA CROISSANCE DE *GLAUCOMA PIRIFORMIS*.

### A. — Intervention expérimentale

Il convient tout d'abord de rechercher dans la littérature scientifique l'intérêt que portent les auteurs au rôle des acides nucléiques et de leurs produits d'hydrolyse comme facteurs de croissance cellulaire.

L'intervention des acides nucléiques dans la croissance cellulaire est reconnue depuis les travaux de Carrel [37]. Cet auteur, étudiant les méthodes de culture de tissus imaginées par Harrisson (1907), introduit une modification consistant en l'emploi du suc embryonnaire, lequel se montre particulièrement favorable à la croissance. Carrel, à la suite de ses recherches, pose la notion de « Tréphones » : principes excitant la multiplication cellulaire, et émet l'hypothèse de l'intervention des acides nucléiques. Cependant, il ne note aucune influence excitante de leur part sur la croissance cellulaire *in vitro*.

Depuis les recherches de Carrel, les travaux sont souvent imprécis, quant au type d'acide nucléique mis en expérience, et les résultats, acquis le plus souvent par les méthodes de culture de tissus, sont contradictoires et peuvent se ranger en trois catégories :

— Action nulle;
— Action excitante;
— Action inhibitrice.

#### a) *Les acides nucléiques ou leurs produits d'hydrolyse n'ont pas d'action sur la croissance cellulaire.*

Dans ce groupe se placent les travaux de Carrel qui observe séparément l'action d'acides nucléiques des deux catégories sur les fibroblastes de cœur.

Davidson et Waymouth [69], de leur côté, étudiant l'action de la « pancréatine » commerciale (produit de précipitation alcoolique d'une macération aqueuse de pancréas) sur la croissance de fibroblastes cultivés sur extrait embryonnaire, constatent une augmentation du phosphore nucléoprotéique, jointe à une intensité accrue de la culture ainsi qu'à des modifications morphologiques (cellules mieux nourries). A partir de ces résultats, les auteurs posent l'hypothèse que le

principe de la « pancréatine » est principalement constitué par des polypeptides et des nucléotides, mais substituent à la « pancréatine », et sans aucun résultat, l'acide ribonucléique du pancréas, du foie, de la levure de bière, les désoxyribosides pyrimidiques, l'adénosine, la guanosine, l'acide adénylique de la levure de bière et du muscle.

b) *Les acides nucléiques ou leurs produits d'hydrolyse ont une action excitante sur la croissance cellulaire.*

De nombreux auteurs ont isolé des sources les plus variées des principes qui, *in vivo*, excitent la croissance cellulaire. Ils les ont identifiés à des dérivés nucléiques appartenant essentiellement au type ribonucléique.

Fischer [95] a isolé de telles substances d'extraits d'embryons de Bœuf et, sans pouvoir a priori préciser leur nature ribo ou désoxyribonucléique, il a pu montrer par une étude plus approfondie que l'activité de la croissance semblait suivre les fractions contenant les riboses nucléotides. Les cellules de levure ont fourni à Loofbourow et ses collaborateurs [129, 130], Lasfargues et Delaunay [127] des facteurs de croissance très actifs de nature pentose nucléique. Les granules macromoléculaires isolés par Claude à partir d'embryons de Poulet normaux âgés de huit jours se sont montrés entre les mains de Tennant, Liebow et Stern [192] présenter, *in vitro*, un pouvoir excitant sur la croissance des tissus. Ces granules sont constitués par des phospholipides associés avec une nucléoprotéine du type ribose, que les auteurs estiment être la fraction active. *In vivo*, Barker, Gulland et Parsons [7] notent que les nucléotides à base d'acide uridylique favorisent la croissance des tumeurs déterminées chez les Souris par le méthylcholanthrène. Chez les micro-organismes, Diczfalusy et Von Euler [75] signalent que, dans certaines conditions, les acides nucléiques peuvent favoriser la croissance d'*Escherichia coli*. L'acide à ribose est toujours plus actif que l'acide à désoxyribose. La guanine, l'uracile, la xanthine agissent dans le même sens; le ribose et l'adénine sont sans action. Gagianut [99] confirme les résultats obtenus avec l'uracile, mais montre, par ailleurs, une action légèrement inhibitrice de l'adénine. Chez les végétaux, Skoog [182] signale une action favorisante de l'adénosine ou, mieux, du sulfate d'adénine ou de la guanine sur la formation des bourgeons. L'adénosine et l'acide adénylique sont moins actifs et, pour cet auteur, les pyrimidines sont inactives.

c) *Les acides nucléiques ou leurs produits d'hydrolyse ont une action inhibitrice sur la croissance cellulaire.*

L'action inhibitrice de l'adénine, démontrée par Gagianut sur *Escherichia coli,* a été reproduite par Barker, Gulland et Parsons *(loc. cit.)* en étudiant l'influence des nucléotides puriques à base d'acide adénylique sur la croissance des tumeurs de Souris traitées au méthylcholanthrène. Ces auteurs ont étendu cette action inhibitrice aux nucléotides guanyliques. L'adénine, l'adénosine, l'adénosine triphosphate sont inhibitrices des cultures de *Neurospora mutant* n° 1.298, comme l'ont constaté Pierce et Loring [162] qui, de plus, ont observé que cette inhibition était supprimée par la cytidine, l'uridine, l'acide cytidylique et uridylique. Lasfargues et Delaunay *(loc cit.,* 1947) observent également l'action défavorable de l'adénine vis-à-vis des cultures de fibroblastes, dont la croissance est aussi gênée par l'acide nucléique retiré du bacille typhique. Des résultats fort intéressants ont été récemment obtenus par Mazia [144] qui, étudiant l'action de l'acide désoxyribonucléique préparé à partir du foie de Grenouille, obtient un blocage au stade gastrula du développement des œufs de Grenouille, par des concentrations élevées de l'ordre de 100 $\gamma$/cm$^3$. Brachet [31] ne réussit pas à reproduire ces résultats, même en injectant les solutions d'acide désoxyribonucléique dans un blastomère au stade normal. Si cet auteur n'obtient pas un arrêt du développement, il note cependant un léger retard des embryons injectés à l'acide désoxyribonucléique du thymus. Il faut tenir compte dans ces derniers travaux que l'acide désoxyribonucléique était employé aux doses, relativement faibles, de 10 $\gamma$/cm$^3$ (concentration dix fois inférieure à celle de Mazia).

L'action des acides nucléiques sur la croissance des cultures bactériennes n'est signalée à notre connaissance dans aucun des traités courants de microbiologie que nous avons consultés. Cependant, dans le manuel de pharmacie chimique de Lebeau et Courtois [128], nous avons lu, au chapitre des acides nucléiques, qu'ils « possèdent une action antiseptique marquée et sont nettement bactéricides. C'est ainsi qu'en solution à 0,5 p. 100 ils tuent les bacilles du choléra en trois à cinq minutes; ceux de la fièvre typhoïde en une heure ». Cette assertion ne comporte aucune référence qui permette de se reporter au travail original pour connaître le mode opératoire et la nature de l'acide nucléique en jeu. Nous avons constaté que

trois tubes de milieux stériles (peptone, peptone + 80 mg. d'acide ribonucléique, peptone + 80 mg. d'acide désoxyribonucléique), préparés dans les conditions habituelles, placés sur un support après les avoir débouchés, présentent une culture spontanée qui commence à pousser dans les vingt-quatre heures, dans les tubes peptone ainsi que peptone + acide ribonucléique, mais ne part qu'au bout d'une quinzaine de jours dans le milieu à base d'acide désoxyribonucléique. Il ne semble pas s'agir d'une action « antiseptique » (intervention comme facteur chimique), ainsi que l'affirment Lebeau et Courtois, mais d'une action inhibitrice comparable à celle constatée chez *Glaucoma*.

La lecture de ces résultats laisse une impression confuse, d'où il ressort l'intervention possible des dérivés nucléiques dans la croissance, selon un sens variable avec les auteurs et les produits employés. En général, l'acide ribonucléique semble activer la croissance, et l'adénine l'inhiber.

### B. — Intervention pathologique

A cette étude expérimentale du rôle des acides nucléiques dans la croissance cellulaire, on doit rattacher les variations nucléoprotéiques constatées en pathologie, dans les tissus cancéreux. Des travaux, effectués par de nombreux auteurs, sur des tissus variés, de beaucoup d'espèces, avec des méthodes différentes, conduisent à des variations considérables d'un travail à l'autre. Tous les chercheurs s'accordent à admettre une augmentation de la richesse des cellules cancéreuses en acide nucléique, mais les variations du rapport acide ribonucléique/acide désoxyribonucléique sont mal définies : il est accru pour certains (Khouvine et Grégoire [118], Rebadek [165]), abaissé pour d'autres (Schneider [176], Stowell [189]). Nous n'indiquerons pas davantage de détails sur ce sujet, et nous conclurons simplement que ces valeurs, auxquelles il ne semble pas falloir accorder actuellement une importance absolue, font penser à l'existence de troubles nucléoprotéiques consécutifs à la pathologie de la cellule.

### C. — Notion d'équilibre métabolique

La pathologie confirme donc l'expérience dans la possibilité d'une liaison entre les acides nucléiques et la croissance cellulaire. La nature de cette liaison ne peut être précisée actuellement, mais les auteurs semblent avoir attaché une importance

trop exclusive à telle ou telle substance, à laquelle ils confèrent une valeur absolue qualitativement et quantitativement. Depuis un ou deux ans, cette notion d'absolu tend à être écartée pour être remplacée par l'idée d'un équilibre : la croissance n'est pas liée à un principe, mais à un rapport entre plusieurs constituants.

Nous avons déjà signalé que l'action inhibitrice de l'adénine et de quelques-uns de ses dérivés, vis-à-vis des cultures de *Neurospora mutant* n° 1.298, est supprimée par la cytidine, l'uridine, l'acide cytidylique et uridylique qui sont des corps chimiquement voisins (Pierce et Loring [162]). Skoog *(loc. cit.)* démontre que la croissance des végétaux nécessite une balance entre substances physiologiquement actives. Cet auteur constate que, dans les conditions expérimentales où il se place, l'adénine exerce une action favorisante sur la croissance des racines de betterave fourragère, et l'acide indolacétique une influence inhibitrice; en outre, l'adénine compense l'action inhibitrice de l'acide indolacétique. Brachet [31] conclut de l'inhibition du développement embryonnaire des Amphibiens qu'il détermine par les acides aminés : « On en arriverait donc ainsi à l'idée que l'introduction dans un embryon en voie de développement d'acides aminés en proportions anormales tend à perturber les mécanismes de la synthèse des protéines ». Cet auteur rapproche ses résultats de ceux de Pontecorvo : « L'addition de certains acides aminés empêche la croissance des micro-organismes, et cette inhibition peut être supprimée en ajoutant d'autres acides aminés ».

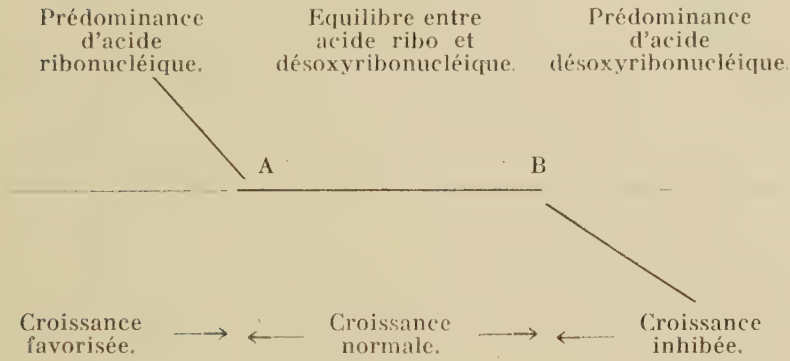
### D. — Notion de déséquilibre ribo-désoxyribonucléique

C'est comme conséquence d'un déséquilibre nucléique que nous allons tenter d'interpréter les résultats acquis et notamment les particularités qui nous ont fait rejeter la théorie de l'action des acides nucléiques en tant que facteurs chimiques.

Dans l'hypothèse de la nécessité d'un équilibre ribo-désoxyribonucléique, la croissance normale du Cilié *Glaucoma piriformis* ne peut s'exercer que pour certaines valeurs de cet équilibre. Ces valeurs s'échelonnent entre deux limites, au delà desquelles la croissance est perturbée. Cette interprétation est résumée dans le graphique n° 7, dont l'étude permet de comprendre les concentrations élevées d'acides nucléiques qu'il faut réaliser pour modifier le rythme de croissance ; ces concentrations ont pour objet de rompre l'équilibre physiologique et devront être d'autant plus élevées que le milieu se

situe plus près d'une limite. C'est ainsi qu'il faudra ajouter d'autant plus d'acide désoxyribonucléique au milieu peptone que celui-ci présente un équilibre ribo-désoxyribonucléique plus rapproché de A (graphique). On conçoit ainsi l'influence variable signalée par les auteurs.

Graphique n° 7 de l'équilibre ribo-désoxyribonucléique de « Glaucoma piriformis ».




Dès que les limites A ou B sont atteintes, le déséquilibre progressif acquis intensifie de plus en plus la perturbation. En outre, une petite quantité de dérivé nucléique qui ne réalise pas un équilibre en dehors des limites de la physiologie normale, et ne modifie donc pas la croissance, devient active lorsqu'au préalable on s'est rapproché de l'un des seuils. Ceci a lieu lorsque, par addition de 80 mg. d'acide désoxyribonucléique, on franchit le seuil B dans la zone d'équilibre rompu. Si le déséquilibre n'est pas trop poussé, une faible quantité d'acide ribonucléique permet de repasser dans la zone physiologique A B.

Pour essayer d'interpréter l'inhibition de début, déterminée par l'acide nucléique à pentose, notamment aux faibles concentrations, et amplifiée par l'acide désoxyribonucléique, on pourrait penser à une « crise de croissance » déclenchée par l'acide à ribose. Celui-ci engendrerait une multiplication accrue du Cilié, à laquelle cet organisme répondrait par une « défaillance » exploitée par l'acide du type désoxyribonucléique, dont l'action retard serait ainsi intensifiée.

## CONCLUSIONS DU CHAPITRE IV

L'intervention des acides nucléiques dans la croissance des cultures de *Glaucoma piriformis* ne peut s'interpréter par des modifications consécutives à une hydrolyse éventuelle, non plus que par des variations du pH ou du rH, ou encore par un phénomène chimique.

La liaison probable des acides nucléiques à la croissance cellulaire, démontrée par les expériences et la pathologie, semble en rapport avec la notion d'un équilibre ribo-désoxyribonucléique entre deux facteurs d'actions presque opposés (action favorisante d'un acide du type ribonucléique, inhibitrice d'un acide du type désoxyribonucléique). Cette notion, que nous venons de poser pour interpréter nos résultats, peut s'appliquer aux nombreux travaux cités, et permet d'en comprendre les divergences : l'équilibre physiologique varie avec la nature du matériel cellulaire et, de plus, dans toutes expériences visant à rompre cet équilibre, il faut tenir compte de la valeur qu'il présente dans le milieu où sont plongées les cellules.

# CHAPITRE V

## APPLICATIONS BIOLOGIQUES DE LA SENSIBILITÉ DE « GLAUCOMA PIRIFORMIS » AUX ACIDES NUCLÉIQUES

Les faits que nous venons d'exposer, et les hypothèses que nous avons émises, nous conduisent à discuter la valeur des dosages chimiques des substances biologiquement actives et plus particulièrement de celles qui intéressent la pathologie, comme il semble être le cas pour les acides nucléiques. La question se complique encore si, comme dans le cas des acides nucléiques, ce n'est pas seulement un élément qui intéresse la physiologie cellulaire, mais deux types d'éléments qui, dans un rapport donné, conditionnent cette physiologie.

### I. — ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ BIOLOGIQUE DES ACIDES NUCLÉIQUES : TEST *GLAUCOMA*

Vu l'ignorance de la constitution chimique des acides nucléiques, par suite de la complexité de celle-ci, les dosages basés sur la détermination du taux en phosphore ou en ose (Schmidt et Tannhauser [177], Schneider [175]) sont impropres à apprécier la nature biologique des acides nucléiques et leur intensité d'action. Brachet [27], Mirko Beljanski et Macheboeuf [147] ont d'ailleurs montré que les techniques faisant appel à la présence des oses sont erronées, les nucléotides puriques fournissant seuls un bon rendement en furfural.

De même, tout dosage, en tant que détermination d'une quantité de substance, n'a biologiquement pas d'intérêt, de par l'absence d'un principe de référence, défini. C'est pourquoi nous considérons que, dans l'état actuel de nos connaissances,

il n'y a pas lieu de parler de dosage biologique, mais seulement d'évaluation d'une activité biologique.

La caractérisation biologique des acides nucléiques présente un intérêt primordial, vu leur rôle possible en pathologie. C'est pourquoi nous avons voulu nous rendre compte si la sensibilité que manifeste *Glaucoma piriformis* à leur égard, permet d'en apprécier l'activité.

L'examen des valeurs précédemment trouvées pour des concentrations variables montre à priori que l'intensité de l'action semble en rapport avec la concentration nucléique. Pour confirmer cette tendance, nous avons étudié le comportement de *Glaucoma piriformis* en présence de concentrations régulièrement croissantes des deux types d'acides nucléiques que nous avons jusqu'ici employés. Quelques résultats obtenus figurent aux tableaux XIV et XV (acide ribonucléique), XVI et XVII (acide désoxyribonucléique). Ils ne comportent, du point de vue mensuration, que les chiffres avoisinant le « coefficient de croissance collective maximum ».

### A. — Acide ribonucléique

L'augmentation numérique est graduée, mais si sa sensibilité est insuffisante pour se prêter à un dosage précis, elle permet dans certaines mesures l'appréciation de l'activité d'un échantillon.

### B. — Acide désoxyribonucléique

Le retard de la culture n'est manifeste qu'à partir de la concentration de 75 mg., et est alors de quatre à cinq jours par rapport aux témoins. Il devient plus important pour un taux de 100 mg./100 cm$^3$, et est alors d'une douzaine de jours.

Du point de vue numérique, on assiste à une diminution graduée, particulièrement nette à la concentration de 100 mg./100 cm$^3$, pour laquelle la concentration maxima est d'environ 0,5 par rapport aux témoins. Parallèlement, « le coefficient de croissance collective maximum », qui est atteint avec un retard en rapport avec celui que la culture met à commencer de « pousser », décroît graduellement; la diminution est particulièrement sensible à partir de 75 mg., avec un rapport de 0,6, le témoin étant pris pour unité.

On saisit donc une influence croissante avec les concentrations, influence dont l'évaluation donne des renseignements biologiques sur l'activité d'échantillons de ces dérivés nucléiques.

## TABLEAU XIV

### Sensibilité de « Glaucoma piriformis » a des concentrations variables d'acide ribonucléique.

| | Age jours | Nombre (mm³) | L | l | $\frac{L \times l}{10 - l}$ | $\frac{L \times l}{10 - l} \times N$ (*) | Moyne num. (**) | Rapport moyenne numérique A/T | Rapport coeffic. (*) A/T |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Témoin | 5 | 46,8 | 2,80 | 1,25 | 0,40 | 18,7 | 85,8 | » | » |
| | 6 | 70,2 | 2,84 | 1,18 | 0,38 | **26,6** | | | |
| | 7 | 80,5 | 2,53 | 0,91 | 0,25 | 20,1 | | | |
| | 8 | 96,1 | » | » | » | » | | | |
| | 9 | 94,7 | » | » | » | » | | | |
| A 12,5 mg. / 100 cm³ | 5 | 50,4 | 2,84 | 1,24 | 0,40 | 20,2 | 87,8 | 1,02 | 0,98 |
| | 6 | 77,1 | 2,67 | 1,15 | 0,34 | **26,2** | | | |
| | 7 | 81,5 | 2,62 | 1,07 | 0,31 | 25,3 | | | |
| | 8 | 95,7 | » | » | » | » | | | |
| | 9 | 97,2 | » | » | » | » | | | |
| A 25 mg. / 100 cm³ | 5 | 52,8 | 2,85 | 1,20 | 0,39 | 20,6 | 92,7 | 1,08 | 1,07 |
| | 6 | 84,0 | 2,77 | 1,11 | 0,34 | **28,6** | | | |
| | 7 | 94,0 | 2,41 | 1,06 | 0,28 | 26,3 | | | |
| | 8 | 102,6 | » | » | » | » | | | |
| | 9 | 90,2 | » | » | » | » | | | |
| A 37,5 mg. / 100 cm³ | 5 | 52,8 | 2,84 | 1,18 | 0,38 | 20,0 | 96,6 | 1,12 | 1,18 |
| | 6 | 87,6 | 2,82 | 1,14 | 0,36 | **31,5** | | | |
| | 7 | 95,2 | 2,43 | 1,04 | 0,28 | 26,6 | | | |
| | 8 | 119,4 | » | » | » | » | | | |
| | 9 | 84,2 | » | » | » | » | | | |
| A 50 mg. / 100 cm³ | 5 | 50,7 | 2,87 | 1,26 | 0,41 | 20,8 | 102,0 | 1,18 | 1,24 |
| | 6 | 95,1 | 2,73 | 1,17 | 0,35 | **33,2** | | | |
| | 7 | 104,5 | 2,32 | 0,98 | 0,22 | 23,0 | | | |
| | 8 | 105,9 | » | » | » | » | | | |
| | 9 | 102,5 | » | » | » | » | | | |
| A 75 mg. / 100 cm³ | 5 | 49,2 | 2,82 | 1,25 | 0,40 | 19,7 | 99,6 | 1,16 | 1,21 |
| | 6 | 87,0 | 2,73 | 1,21 | 0,37 | **32,2** | | | |
| | 7 | 89,2 | 2,51 | 1,11 | 0,31 | 27,6 | | | |
| | 8 | 110,1 | » | » | » | » | | | |
| | 9 | 112,0 | » | » | » | » | | | |
| A 100 mg. / 100 cm³ | 5 | 53,7 | 2,91 | 1,30 | 0,43 | 23,3 | 108,2 | 1,26 | 1,87 |
| | 6 | 118,7 | 2,86 | 1,30 | 0,42 | **49,8** | | | |
| | 7 | 92,0 | 2,64 | 1,23 | 0,37 | 34,0 | | | |
| | 8 | 104,4 | » | » | » | » | | | |
| | 9 | 118,0 | » | » | » | » | | | |

A = Acide ribonucléique.

(*) Le coefficient de croissance collective maximum est en caractère gras.

(**) La moyenne numérique correspond à la concentration maximum par millimètre cube de culture, et est obtenue en faisant la moyenne entre les chiffres correspondant au maximum, et en caractère gras.

## TABLEAU XV

### Sensibilité de « Glaucoma piriformis » a des concentrations variables d'acide ribonucléique.

| | Age jours | Nombre (mm³) | L | 1 | $\frac{L \times 1}{10-1}$ | $\frac{L \times 1}{10-1} \times N$ (*) | Moyne num. (**) | Rapport moyenne numérique A/T | Rapport coeffic. (*) A/T |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Témoin | 4 | 23,2 | » | » | » | » | 56,4 | » | » |
| | 5 | 36,2 | 2,95 | 1,37 | 0,46 | 16,6 | | | |
| | 6 | **54,6** | 2,99 | 1,23 | 0,42 | **22,9** | | | |
| | 7 | **50,1** | 2,95 | 1,27 | 0,43 | 21,5 | | | |
| | 8 | **64,8** | » | » | » | » | | | |
| | 9 | **56,2** | » | » | » | » | | | |
| A 12,5 mg. / 100 cm³ | 4 | 31,0 | » | » | » | » | 65,2 | 1,15 | 1,00 |
| | 5 | 43,6 | 3,03 | 1,46 | 0,51 | 22,2 | | | |
| | 6 | **58,5** | 2,87 | 1,22 | 0,39 | **22,8** | | | |
| | 7 | **67,5** | 2,78 | 1,05 | 0,32 | 22,0 | | | |
| | 8 | **67,8** | » | » | » | » | | | |
| | 9 | **67,0** | » | » | » | » | | | |
| A 25 mg. / 100 cm³ | 4 | 42,0 | » | » | » | » | 68,9 | 1,22 | 1,00 |
| | 5 | 47,0 | 3,04 | 1,35 | 0,47 | 22,1 | | | |
| | 6 | **51,0** | 2,97 | 1,32 | 0,45 | **22,9** | | | |
| | 7 | **58,5** | 2,97 | 1,15 | 0,38 | 22,2 | | | |
| | 8 | **79,2** | » | » | » | » | | | |
| | 9 | **87,0** | » | » | » | » | | | |
| A 37,5 mg. / 100 cm³ | 4 | 31,6 | 2,90 | 1,37 | 0,46 | 14,5 | 66,3 | 1,17 | 1,08 |
| | 5 | 53,6 | 2,98 | 1,35 | 0,46 | **24,7** | | | |
| | 6 | **58,8** | 2,89 | 1,22 | 0,40 | 23,5 | | | |
| | 7 | **62,4** | » | » | » | » | | | |
| | 8 | **61,2** | » | » | » | » | | | |
| | 9 | **83,0** | » | » | » | » | | | |
| A 50 mg. / 100 cm³ | 4 | 25,6 | » | » | » | » | 70,6 | 1,24 | 1,04 |
| | 5 | 42,0 | 3,03 | 1,56 | 0,54 | 22,7 | | | |
| | 6 | **59,1** | 2,91 | 1,22 | 0,40 | **23,6** | | | |
| | 7 | **63,1** | 2,14 | 1,01 | 0,24 | 15,1 | | | |
| | 8 | **72,0** | » | » | » | » | | | |
| | 9 | **87,2** | » | » | » | » | | | |
| A 75 mg. / 100 cm³ | 4 | 32,2 | » | » | » | » | 73,5 | 1,30 | 1,06 |
| | 5 | 35,0 | » | » | » | » | | | |
| | 6 | 44,1 | 2,88 | 1,36 | 0,45 | 19,8 | | | |
| | 7 | **57,9** | 2,89 | 1,27 | 0,42 | **24,3** | | | |
| | 8 | **77,4** | 2,03 | 1,24 | 0,28 | 21,7 | | | |
| | 9 | **85,2** | » | » | » | » | | | |
| A 100 mg. / 100 cm³ | 4 | 47,8 | » | » | » | » | 81,5 | 1,44 | 1,43 |
| | 5 | 58,4 | 2,92 | 1,42 | 0,48 | 28,0 | | | |
| | 6 | **72,9** | 2,91 | 1,35 | 0,45 | **32,8** | | | |
| | 7 | **77,4** | 2,81 | 1,11 | 0,35 | 27,1 | | | |
| | 8 | **95,1** | » | » | » | » | | | |
| | 9 | **80,7** | » | » | » | » | | | |

A = Acide ribonucléique.

(*) Le coefficient de croissance collective maximum est en caractère gras.

(**) La moyenne numérique correspond à la concentration maximum par millimètre cube de culture, et est obtenue en faisant la moyenne entre les chiffres correspondant au maximum, et en caractère gras.

## TABLEAU XVI

SENSIBILITÉ DE « GLAUCOMA PIRIFORMIS »
A DES CONCENTRATIONS VARIABLES D'ACIDE DÉSOXYRIBONUCLÉIQUE.

| | AGE JOURS | NOMBRE (MM³) | L | l | $\frac{L \times l}{10 - l}$ | $\frac{L \times l}{10 - l} \times N$ (*) | MOY^ne NUM. (**) | RAPPORT MOYENNE NUMÉRIQUE D/T | RAPPORT COEFFIC. (*) D/T |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Témoin | 4 | » | » | » | » | » | 80,0 | » | » |
| | 5 | **80,2** | 2,80 | 1,32 | 0,42 | **33,7** | | | |
| | 6 | 81,0 | 2,52 | 1,04 | 0,29 | 23,5 | | | |
| | 7 | **78,9** | » | » | » | » | | | |
| | 8 | 69,0 | » | » | » | » | | | |
| D 12,5 mg. / 100 cm³ | 4 | » | » | » | » | » | 70,1 | 0,87 | 0,69 |
| | 5 | **63,2** | 2,74 | 1,19 | 0,37 | **23,4** | | | |
| | 6 | **66,2** | 2,57 | 1,07 | 0,27 | 17,9 | | | |
| | 7 | **75,3** | » | » | » | » | | | |
| | 8 | **75,7** | » | » | » | » | | | |
| D 37,5 mg. / 100 cm³ | 4 | » | » | » | » | » | 62,4 | 0,78 | 0,71 |
| | 5 | **64,0** | 2,77 | 1,23 | 0,38 | **24,3** | | | |
| | 6 | **63,2** | 2,77 | 1,23 | 0,38 | 24,0 | | | |
| | 7 | **60,0** | 2,64 | 1,06 | 0,31 | 18,6 | | | |
| | 8 | 53,7 | » | » | » | » | | | |
| D 50 mg. / 100 cm³ | 4 | » | » | » | » | » | 61,4 | 0,76 | 0,62 |
| | 5 | 43,7 | 2,83 | 1,37 | 0,45 | 19,6 | | | |
| | 6 | **57,5** | 2,78 | 1,19 | 0,37 | **21,3** | | | |
| | 7 | **48,9** | » | » | » | » | | | |
| | 8 | **71,7** | » | » | » | » | | | |
| | 9 | **67,5** | » | » | » | » | | | |
| D 75 mg. / 100 cm³ | 8 | **30,0** | » | » | » | » | 57,9 | 0,72 | 0,53 |
| | 9 | 40,2 | 2,77 | 1,26 | 0,40 | 16,0 | | | |
| | 10 | **52,8** | 2,76 | 1,11 | 0,34 | 18,0 | | | |
| | 11 | **60,0** | 2,58 | 1,04 | 0,30 | 18,0 | | | |
| | 12 | **64,5** | » | » | » | » | | | |
| | 13 | **54,6** | » | » | » | » | | | |
| D 100 mg. / 100 cm³ | 16 | 18,0 | 2,57 | 1,39 | 0,41 | 7,4 | 41,3 | 0,51 | 0,53 |
| | 17 | **48,9** | 2,74 | 1,18 | 0,37 | **18,1** | | | |
| | 18 | **33,0** | 2,82 | 1,13 | 0,36 | 11,9 | | | |
| | 19 | **42,0** | » | » | » | » | | | |

D = Acide désoxyribonucléique.

(*) Le coefficient de croissance collective maximum est en caractère gras.

(**) La moyenne numérique correspond à la concentration maximum par millimètre cube de culture, et est obtenue en faisant la moyenne entre les chiffres correspondant au maximum, et en caractère gras.

## TABLEAU XVII

SENSIBILITÉ DE « GLAUCOMA PIRIFORMIS » A L'ACIDE DÉSOXYRIBONUCLÉIQUE AJOUTÉ EN QUANTITÉS VARIABLES AU MILIEU PEPTONÉ.

| | Age jours | Nombre (mm³) | L | l | $\frac{L \times l}{10-l}$ | $\frac{L \times l}{10-l} \times N$ (*) | Moyne num. (**) | Rapport moyenne numérique D/T | Rapport coeffic. (*) D/T |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Témoin | 4 | 33,5 | » | » | » | » | 79,7 | » | » |
| | 5 | 73,5 | 2,77 | 1,16 | 0,36 | 26,5 | | | |
| | 6 | 80,4 | 2,79 | 1,09 | 0,34 | **27,3** | | | |
| | 7 | 88,2 | 1,60 | 0,94 | 0,26 | 22,9 | | | |
| | 8 | 78,0 | » | » | » | » | | | |
| | 9 | 78,3 | » | » | » | » | | | |
| D 12,5 mg. / 100 cm³ | 4 | 28,9 | » | » | » | » | 73,0 | 0,91 | 1,00 |
| | 5 | 64,5 | 2,86 | 1,24 | 0,40 | 25,8 | | | |
| | 6 | 71,7 | 2,89 | 1,17 | 0,38 | **27,2** | | | |
| | 7 | 75,6 | 2,74 | 0,92 | 0,27 | 20,4 | | | |
| | 8 | 75,9 | » | » | » | » | | | |
| | 9 | 77,4 | » | » | » | » | | | |
| D 25 mg. / 100 cm³ | 5 | 47,4 | 2,69 | 1,18 | 0,36 | 17,0 | 70,4 | 0,88 | 0,86 |
| | 6 | 67,9 | 2,70 | 1,15 | 0,35 | **23,7** | | | |
| | 7 | 66,1 | 2,75 | 1,09 | 0,33 | 21,8 | | | |
| | 8 | 77,4 | » | » | » | » | | | |
| D 37,5 mg. / 100 cm³ | 5 | 46,8 | » | » | » | » | 65,4 | 0,82 | 0,90 |
| | 6 | 53,4 | 2,82 | 1,27 | 0,41 | 21,9 | | | |
| | 7 | 63,6 | 2,70 | 1,23 | 0,39 | **24,7** | | | |
| | 8 | 70,8 | 2,67 | 1,08 | 0,32 | 22,6 | | | |
| | 9 | 61,8 | » | » | » | » | | | |
| D 75 mg. / 100 cm³ | 8 | 18,9 | » | » | » | » | 65,0 | 0,81 | 0,72 |
| | 9 | 34,2 | » | » | » | » | | | |
| | 10 | 43,8 | 2,74 | 1,20 | 0,37 | 16,2 | | | |
| | 11 | 57,9 | 2,66 | 1,14 | 0,34 | **19,7** | | | |
| | 12 | 71,7 | 2,40 | 1,01 | 0,26 | 18,6 | | | |
| | 13 | 65,4 | » | » | » | » | | | |
| D 100 mg. / 100 cm³ | 13 | 49,2 | 2,70 | 1,34 | 0,41 | **20,2** | 45,6 | 0,57 | 0,76 |
| | 14 | 51,6 | 2,82 | 1,22 | 0,39 | 20,1 | | | |
| | 15 | 39,0 | » | » | » | » | | | |
| | 16 | 42,6 | » | » | » | » | | | |

D = Acide désoxyribonucléique.

(*) Le coefficient de croissance collective maximum est en caractère gras.

(**) La moyenne numérique correspond à la concentration maximum par millimètre cube de culture, et est obtenue en faisant la moyenne entre les chiffres correspondant au maximum, et en caractère gras.

Deux échantillons d'acide désoxyribonucléique nous ont été adressés par les Laboratoires Byla, à un intervalle d'un an environ. Leur activité sur la croissance de *Glaucoma piriformis* présente une intensité variant presque du simple au triple. Les dosages colorimétriques des oses par la réaction de Dische, complétés par ceux de l'azote et du phosphore, conduisent à admettre leur identité chimique. Nous sommes donc en présence de deux acides désoxyribonucléiques que l'analyse chimique identifie, mais qui, biologiquement, varient considérablement.

Le « test *Glaucoma* » permet donc une évaluation de l'activité biologique des acides nucléiques, activité qu'il y aurait avantage à traduire en unités biologiques, vu l'absence d'un principe de référence défini. Il plaide en faveur de la multiplicité des produits répondant à l'appellation d'acide désoxyribonucléique, selon notre expérimentation, et constituerait un moyen simple d'essai de ces dérivés, permettant peut-être de réduire la divergence des résultats acquis par les expérimentateurs.

## II. — DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE D'UN DÉSÉQUILIBRE RIBO-DÉSOXYRIBONUCLÉIQUE

L'évaluation de l'activité biologique prend toute son importance dans le cas d'une coexistence de deux types d'acides nucléiques qui, nous venons de le démontrer, n'interviennent pas physiologiquement selon une valeur absolue, mais dans un équilibre.

L'application de cette balance physiologique n'est possible qu'en faisant appel à la sensibilité d'une cellule dont l'équilibre ribo-désoxyribonucléique est connu.

*Glaucoma piriformis,* de manipulation aisée, constituerait peut-être un réactif intéressant en pathologie nucléique, et notamment dans le diagnostic du cancer.

## CONCLUSIONS DU CHAPITRE V

La physiologie et la pathologie tireront peut-être profit du « test *Glaucoma* » pour l'évaluation biologique de l'activité des acides nucléiques, et plus particulièrement pour l'appréciation de l'équilibre ribo-désoxyribonucléique. Sa réalisation réduirait peut-être les divergences expérimentales et permettrait de les comprendre.

# CONCLUSIONS

Les importantes recherches de Boivin sur la question des acides nucléiques l'amènent à conclure : « Il est fort probable qu'un rôle capital se trouve dévolu aux acides nucléiques dans la constitution et dans le fonctionnement, non seulement de la minuscule cellule bactérienne, mais de toutes les cellules vivantes » [18]. L'appréciation de cette importance cytologique et physiologique est délicate vu la complexité chimique de ces substances, et il semble qu'elle puisse être facilitée par l'étude de la physiologie d'organismes relativement simples. Nous avons choisi *Glaucoma piriformis*, Cilié holotriche, volumineux, de manipulation aisée, et qui, physiologiquement, semble présenter les mêmes besoins en amino-acides que les Mammifères. Nous nous sommes attaché à étudier si les acides ribo- et désoxyribonucléiques introduits dans leur milieu de culture modifient l'allure de leur croissance.

Nous avons tout d'abord montré que l'étude de la croissance des micro-organismes par des mesures photométriques est imparfaite, et que les numérations ne fournissent que des résultats partiels. Ceci nous a amené à définir des méthodes appréciant le nombre et l'état des Ciliés, et à résumer les résultats qu'elles fournissent par des chiffres : « coefficient de croissance individuelle » et « coefficient de croissance collective », dont l'objectivité a été établie par comparaison avec les indices turbidimétriques, ainsi que par des mesures effectuées sur des milieux variés (peptone, cervelle, placenta).

Après avoir mis au point une méthode d'identification de l'acide ribonucléique, nous avons vérifié si nos échantillons, séparés d'acides nucléiques, n'en renferment qu'un type.

Nous avons pu constater que l'influence des acides nucléiques (à ribose et à désoxyribose) sur la croissance du Cilié se manifeste dans des sens pratiquement opposés, sans jamais affecter le « coefficient de croissance individuelle ». L'acide

ribonucléique favorise la culture en augmentant notamment la concentration numérique et, par suite, la valeur maximum du coefficient de croissance collective; l'acide désoxyribonucléique inhibe la croissance, ce qui peut se traduire par une augmentation du temps de latence de la culture, et une diminution de la concentration numérique maxima, donc du coefficient de croissance collective maximum, qui est atteint avec un retard en rapport avec celui que met la culture à commencer à pousser. Si, au lieu d'agir séparément, les deux types d'acides nucléiques sont ajoutés simultanément au milieu, leurs effets s'additionnent. Les résultats acquis varient avec le rapport créé, et pour certaines valeurs de ce rapport, les perturbations de croissance disparaissent.

Pour expliquer ces résultats, nous ne retiendrons des différentes hypothèses envisagées que celle qui suppose la nécessité d'un équilibre ribo-désoxyribonucléique compatible avec la physiologie cellulaire. Cette hypothèse permet d'interpréter les particularités expérimentales et ne constitue qu'une généralisation aux acides nucléiques de la notion d'équilibre hormonal qui régit la physiologie des êtres supérieurs.

Cette sensibilité de *Glaucoma piriformis* se prête à une évaluation de l'activité biologique des acides nucléiques et permet d'apprécier la nature et l'intensité d'un déséquilibre ribo-désoxyribonucléique, ce qui nous conduit à supposer que ce Cilié constituerait un excellent réactif de dépistage des déséquilibres nucléiques en pathologie.

Cet exemple illustre ce que Boulanger écrivait il y a deux ans : « Deux substances chimiquement voisines agiraient sur la division cellulaire dans des sens sinon absolument opposés, du moins nettement distincts, et c'est de leur concentration dans le milieu intérieur, de l'équilibre entre leurs actions antagonistes, que dépendrait la croissance des tissus et des organes »... et l'auteur continue; si cette hypothèse était exacte, « elle aurait une influence décisive sur nos conceptions de la pathologie des néoplasmes. A l'origine du cancer et de son développement, il y aurait, soit un déséquilibre entre facteurs favorisant et inhibant les mitoses, soit une modification de la sensibilité de certaines cellules aux substances régulatrices » [21].

En schématisant, l'intérêt de ce travail réside essentiellement dans les points suivants :

1° Insuffisance des méthodes turbidimétriques à apprécier la croissance des cultures de Protozoaires;

2° Sensibilités d'un Cilié, *Glaucoma piriformis*, aux acides nucléiques et, par là, extension au groupe des Protozoaires de l'importance attachée en bactériologie et en pathologie à ces principes;

3° Action des acides nucléiques à ribose et désoxyribose, sur la multiplication de *Glaucoma piriformis* dans des sens opposés : positif (acide à ribose), négatif (acide à désoxyribose;

4° Nécessité d'un équilibre ribo-désoxyribonucléique pour l'accomplissement de la physiologie cellulaire;

5° Intérêt d'un essai biologique des acides nucléiques, possible grâce à la sensibilité de *Glaucoma piriformis*, et dont la réalisation permettrait la comparaison des résultats.

# BIBLIOGRAPHIE


1. Abderhalden (E.) & Schiffman (O.). — Weitere Untersuchen über die von einzelnen Organen hervorgebrachten Substanzen mit specifischen Wirkung. *Pfl. Arch. f. Ges. phys.*, 1922, **194,** 206-217.
2. Akasi (S.). — On the nucleic acid of typhoid bacillus of mice. *J. Biochem.*, 1938, **28,** 355-370.
3. Alexander (J.), Mc Carty (K. S.) & Alexander-Johnson (E.). — Rapid method of preparing Schiff's reagent for the Feulgen test. *Science*, 1950, **111,** 13.
4. Avery (O. T.), Mc Leod (C. M.) et Mc Carty (M.). — Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of Pneumococcal types. *J. Exper. Med.*, 1944, **79,** 137-158.
5 et 6. Bailenger (J.), Neuzil (E.) & Le Hir (A.). — Utilisation de l'alginate de sodium dans les techniques de montage biologique. *C. R. Soc. Biol.*, 1951, **145,** 574-576.
7. Barker (G. R.), Gulland (J. M.) & Parsons (L. D.). — Tissue changes in exper. mice treated with pentose nucleotides. *Nature*, 1946, **157,** 482-483.
8. Bennet (M. A.) & Toennies (G.). — Intestinal and liver factors in metabolic utilization of homocystine. *J. Biol. Chem.*, 1946, **163,** 235-245.
9. Blass (J.), Machebœuf (M.) & Nunez (G.). — Méthode de microdosage des oses pouvant s'appliquer à l'étude des spots de chromatogramme sur papier. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1950, **32,** 130-135.
10. Boivin (A.). — Acquisitions récentes sur les nucléoprotéides. *Exp. ann. biochim. med.*, 1944, sér. 4, 7-36.
11. Boivin (A.). — Les acides nucléiques dans la constitution et la vie de la cellule bactérienne. *C. R. Soc. Biol.*, 1948, **142,** 1258-1275.
12. Boivin (A.) & Vendrely (R.). — Les nucléotides, constituants des cellules bactériennes. *C. R. Soc. Biol.*, 1943, **137,** 432-433.

13. Boivin (A.), Delaunay (A.), Vendrely (R.) & Lehoult (Y.). — Interactions bactériennes chez les colibacilles. *C. R. Soc. Biol.*, 1945, **139**, 1046.

14. Boivin (A.)., Delaunay (A.), Vendrely (R.) & Lehoult (Y.). — Interactions bactériennes chez les colibacilles. *C. R. Ac. Sc.*, 1945, **221**, 718-719.

15. Boivin (A.), Vendrely (R.) & Lehoult (Y.). — L'acide thymonucléique polymérisé, principe paraissant susceptible de déterminer la spécificité sérologique et l'équipement enzymatique des bactéries. *C. R. Soc. Biol.*, 1945, **139**, 1047.

16. Boivin (A.), Vendrely (R.) & Lehoult (Y.). — L'acide thymonucléique polymérisé dans la spécificité sérologique et l'équipement enzymatique des bactéries. *C. R. Ac. Sc.*, 1945, **221**, 646-647.

17. Boivin (A.), Vendrely (R.) & Tulasne (R.). — Rôle des deux acides nucléiques dans la multiplication, dans la mutation des cellules bactériennes et plus généralement dans la vie des cellules. *Arch. Sc. Physiol.*, 1947, **1**, 35-47.

18. Boivin (A.), Vendrely (R.) & Tulasne (R.). — Rôle des acides nucléiques dans la constitution et la vie des cellules bactériennes. *Bull. Ac. Méd.*, 1947, **131**, 39-43.

19. Boivin (A.), Vendrely (R.) & Vendrely (C.). — L'acide désoxyribonucléique du noyau cellulaire, dépositaire des caractères héréditaires. *C. R. Ac. Sc.*, 1948, **226**, 1061-1063.

20. Boivin (A.), Tulasne (R.) & Vendrely (R.). — Les deux acides nucléiques dans la constitution cytologique et la physiologie des bactéries. *Bull. Ac. Nat. Méd.*, 1947, **131**, 561-564.

21. Boulanger (P.). — Les poisons mitotiques. *Exp. Ann. Bio. Med.*, 1948, sér. 9, 281-301.

22. Brachet (J.). — Comportement de l'acide thymonucléique au cours de l'oogenèse chez diverses espèces animales. *Arch. Biol.*, 1929, **39**, 677-697.

23. Brachet (J.). — L'évolution des pentoses pendant le développement de l'œuf d'Oursin. *C. R. Soc. Biol.*, 1931, **108**, 1167-1169.

24. Brachet (J.). — Synthèse de l'acide thymonucléique pendant le développement de l'œuf d'Oursin. *Arch. Biol.*, 1933, **44**, 519-570.

25. Brachet (J.). Remarques sur la formation de l'acide thymonucléique pendant le développement des œufs à synthèse partielle. *Arch. Biol.*, 1937, **48**, 529-540.

26. Brachet (J.). — Détection histochimique des acides pentose-nucléiques. *C. R. Soc. Biol.*, 1940, **133**, 88-91.

27. Brachet (J.). — Détection histochimique et microdosage des acides pentose-nucléiques. *Enzymologia*, 1941, **10**, 87-96.

28. Brachet (J.). — Localisation des acides pentose-nucléiques

dans les tissus animaux et les œufs d'Amphibiens en voie de développement. *Arch. Biol.*, 1942, **53**, 207-257.

29. Brachet (J.). — Synthèse de l'acide thymonucléique au cours du développement embryonnaire. *C. R. Soc. Biol.*, 1945, **139**, 193-195.
30. Brachet (J.). — Rôle et localisation des acides nucléiques au cours du développement embryonnaire. *C. R. Soc. Biol.*, 1948, **142**, 1241-1252.
31. Brachet (J.). — Action de différentes métabolites (glucose, acides aminés, vitamines...) sur le développement des œufs de Grenouille normaux ou soumis à un choc thermique. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1950, **32**, 443-450.
32. Brachet (J.). — Particules cytoplasmiques riches en acide pentose-nucléique. *Enzymologia*, 1944, **11**, 196-212.
33. Brachet (J.), Jeener (R.), Rooselt (M.) & Thonet (L.). - Etude des variations de la teneur en acide ribonucléique du foie au cours de différentes études physiologiques. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1946, **28**, 460-465.
34. Brandt (K. M.). — Physiologische Chemie und Cytologie der Presshefe. *Protoplasma*, 1941, **36**, 77.
35. Budington (R.) & Harvey (H. F.). — Division rate in Ciliate protozoa as influenced by thyroid constituents. *Biol. Bull.*, 1915, **38**, 304-314.
36. Callot (J.) & Vendrely (R.). — Essais d'action enzymatique sur des micro-organismes du groupe des Rickettsia. *C. R. Soc. Biol.*, 1948, **142**, 396-397.
37. Carrel (A.). — Artificial activation of the growth in vitro of connective tissues. *J. Exp. Med.*, 1913, **17**, 14-18.
38. Caspersson (T.). — Uber den chemischen Aufban des Zellkernes. *Skand. Arch. Physiol.*, 1936 (supp$^t$ 8), **73**, 1-151.
39. Caspersson (T.) & Roy (J.). — Methods for the determination of the absorption spectra of cell structures. *J. Roy. Micr. Soc.*, 1940, **60**, 8-25.
40. Caspersson (T.). — Studies on the nucleic acid metabolism during the cell cycle. *Arch. Exper. Zell. Forsch.*, 1939, **22**, 655.
41. Caspersson (T.). — Uber die rolle der Desoxyribonucleinsäure bei der Zellteilung. *Chromosoma*, 1939, **1**, 147-156.
42. Caspersson (T.). — Methods for the determination of the absorption spectra of cell structure. *J. Roy. Micr. Soc.*, 1940, **60**, 8-25.
43. Caspersson (T.). — Studien über der Eiweissumsatz der Zelle. *Naturwiss.*, 1941, **29**, 33-43.
44. Caspersson (T.) & Brandt (K. M.). — Nucleotidumsatz und Wachstum bei Presshefe. *Protoplasma*, 1940, **35**, 507-526.
45. Caspersson (T.) & Hammarsten (O.). — *Trans. Far. Soc.*, 1935, **31**, 367.

46. Caspersson (T.), Landstrom (H.), Hydem (B.) & Aquilonius (L.). — Cytoplasm Nukleotide in Eiweiss produzierendem Drusenzellen. *Chromosoma*, 1941, **2**, 111.

47. Caspersson (T.), Malmgren (B.), Thorell (B.) & Bjerkelung (E.). — Nucleotidomsättning och Kärnorganisation hos bakterien. *Nordisk. Med.*, 1945, **28**, 2636.

48. Caspersson (T.) & Schultz (J.). — Pentosenucleotides in the cytoplasm of growing tissues. *Nature*, 1939, **143**, 602.

49. Caspersson (T.) & Schultz (J.). — Ribonucleic acids in both nucleus and the function of the nucleolus. *Proc. Nat. Ac. Sc.*, 1940, **26**, 507-523.

50. Caspersson (T.) & Thorrel (B.). — Der endozellulare Eiweiss und Nukleinsäurestoffwechsel in embryonalem Gewebe. *Chromosoma*, 1941, **2**, 132-156.

51. Da Costa (A. C.), Geraldes Barba (F.). & Vasconcelos Frazaos (J.). — Formations basophiles de nature ribonucléique dans les glandes endocrines. *C. R. Ass. Anat.*, 1949, **56**, 111-115.

52. Chantrenne (H.). — Granules à pentose-nucléoprotéide de la levure. *Act. Biol. Belg.*, 1943, 97.

53. Chargaff (E.), Magasanik (B.), Vischer (E.), Green (C.), Doniger (R.) & Elson (D.). — Nucleotide composition of pentosenucleotide acid from yeast and mammalian tissues. *J. Biol. Chem.*, 1950, **186**, 51-67.

54. Chatton (S.). — Culture d'un Flagellé du genre *Trichomastix* sur gélose au sang N. N. N. *C. R. Soc. Biol.*, 1918, **81**, 343-346.

55. Chatton (E.). — Culture pure d'un *Trichomastix* sur organes. *C. R. Soc. Biol.*, 1918, **81**, 346-349.

56. Chatton (E.). — Culture des *Trichomastix* sur tissus coagulés. *C. R. Soc. Biol.*, 1918, **81**, 774-777.

57. Chatton (E.) et Brachon (S.). — Discrémination chez deux Infusoires du genre *Glaucoma*, entre système argentophile et infraciliature. *C. R. Soc. Biol.*, 1935, **118**, 399-403.

58. Chatton (E.) & Lwoff (A.). — Méthode d'imprégnation argentique de l'infraciliature des Ciliés marins et d'eau douce. *C. R. Soc. Biol.*, 1930, **104**, 834-836.

59. Chatton (E.) & Lwoff (A.). — Constitution primitive de la strie ciliaire des Infusoires, la Desmodexie. *C. R. Soc. Biol.*, 1935, **118**, 1068-1072.

60. Chatton (E.), Lwoff (A.) & Lwoff (M.). — Dualité des corps basaux des cils chez les Infusoires. *C. R. Soc. Biol.*, 1931, **107**, 560-564.

61. Claude (A.). — Particulate components of normal and tumor cells. *Science*, 1940, **91**, 77.

62. Claude (A.). — The constitution of protoplasm. *Science*, 1943, **97**, 451-456.

63. Claude (A.). — The constitution of mitochondria and microsomes and the distribution of nucleic acid in the cytoplasma of a leucemic cell. *J. Exp. Med.*, 1944, **80,** 19-29.

64. Cohen (S. S.). — The synthesis of bact. viruses in infected cells. *Cold Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.*, 1947, **12,** 35-48.

65. Cohen (S. S.) & Stanley (W. M.). — The molecular size and shape of the nucleic acid of tobacco mosaic virus. *J. Biol. Chem.*, 1942, **144,** 589-598.

66. Cori (G. T.). — The influence of thyroid extracts and thyroxin on the rate of multiplication of Paramecia. *The Amer. J. of Physiol.*, 1923, **65,** 295.

67. Davidson (J. N.). — Cytoplasmic ribonucleoproteins. *Biochem. Journ.*, 1945, **39.**

68. Davidson (J. N.). — Some factors influencing the nucleic acid content of cells and tissues. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 1947, **12,** 50-58.

69. Davidson (J. N.) & Waymouth (C.). — Factors in pancreatin which influence the nucleoprotein content of fibroblasts growing in vitro. *Quart. J. Exp. Physiol.*, 1944, **33,** 19-33.

70. Davidson (J. N.) & Waymouth (C.). — Tissue nucleic acid : liver tissue. *Biochem. J.*, 1944, **38,** 379-385.

71. Delaunay (A.), Sarciron (R.), Vendrely (R.) & Lehoult (Y.). — *Rev. Immunol.*, 1942, **7,** 142.

72. Delaunay (A.) & Vendrely (R.). — Recherches sur le chimiotactisme leucocytaire. Pouvoir chimiotadique des nucléoprotéides bactériens. *C. R. Soc. Biol.*, 1942, **136,** 642.

73. Desclin (L.). — Substances pentose-nucléiques de l'hypophyse antérieure du Rat et du Cobaye. *C. R. Soc. Biol.*, 1940, **133,** 457.

74. Dhere (C. H.). — Absorption des U. V. par l'acide nucléique de la levure de bière. *C. R. Soc. Biol.*, 1906, **60,** 34.

75. Dicsfalusy (E.) et Von Euler (H.). — Wachstum von E. coli in Nukleinsäuren und nukleinsäurekompenten enthaltenden synthetischen Nahrlösungen. *Ark. Kemi. mineral. o. Geol.*, 1947, **24,** 1-12.

76. Dische (Z.). — Réaction colorée de l'acide thymonucléique et application cytochimique. *Mikrochemie*, 1930, **8,** 4-32.

77. Dubos (R. J.) & Thompson (R. H.). — Enzyme capable de décomposer l'acide nucléique. *J. Biol. Chem.*, 1938, **124,** 501-510.

78. Dubos (R. J.). — Enzyme capable de décomposer l'acide nucléique. *Science*, 1937, **85,** 549-550.

79. Dubos (R. J.). — The effect of the bacteriolytic enzyme of Pneumococcus upon antigenicity of encapsulated Pneumococci. *J. exp. Med.*, 1937, **66,** 113-123.

80. Dubos (R. J.) & Mc Leod (C. M.). — The effect of a host resis-

tant enzyme upon the antigenicity of Pneumococci. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1937, **36,** 696-697.

81. Dubos (R. J.) & Mc Leod (C. M.). — The effect of a tissue enzyme upon Pneumococci. *J. Exp. Med.*, 1938, **67,** 791-797.
82. Ehrenberg. — Die Infusions-thierschen, 1838; *in* Maupas (réf. 142).
83. Emerique-Blum (H.) & Lwoff (A.). — Dosage de petites quantités d'aneurine au moyen du test *Glaucoma piriformis*. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1940, **88,** 179-184.
84. Faguet (M.). — Photo-électricité et croissance bactérienne. *Act. Sci. et Ind.*, 1941, **898,** 102 p. (Hermann).
85. Faure-Fremiet (E.). — *Glaucoma piriformis* et l'organisation de la substance vivante. *C. R. Ass. Anat.*, 8e réunion, Bordeaux, 1906, 120-126.
86. Faure-Fremiet (E.). — Etude sur les mitochondries des Protozoaires et des cellules sexuelles. *Arch. Anat. Microsc.*, 1910, **11,** 437-648.
87. Faure-Fremiet (E.). — La cellule et son organisation. *Ann. Biol.*, 1946, **22,** 57-119.
88. Faure-Fremiet (E.). — Morphologie comparée et systématique des Ciliés. *Bull. Soc. Zoo.*, 1950, **75,** 109-120.
89. Ferramola (R.). — The nucleoprotein of *B. anthracis*. In *Chem. Abstract.*, 1936, **30,** 2211.
90. Feulgen (R.). — Uber die Kohlen hydratgruppe in der echten Nucleinsäure. *Zeitschr. f. phys. Chem.*, 1914, **92,** 154-158; 1917, **100,** 241-258.
91. Feulgen (R.) & Rossenbeck (H.). — *Zeitschr. f. phys. Chem.*, 1924, **135,** 203.
92. Feulgen (R.), Behrens (M.) & Mahdihassan (S.). — Darstellung und Identifizierung in den pflanzischen Zellkernenvorkommenden Nucleinsäure. *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, 1937, **246,** 203-211.
93. Filatov (P.). — *Oftalmoguitschesky Journal*, 1946, **1,** 43-47; *J. Ophtalmologie*, 1947, **48,** 243-256.
94. Fischer (A.). — Vorlesungen über Bakterienen, Iena, 1903.
95. Fischer (A.). — Nature of the growth accelerating substance of animal tissue cells. *Nature*, 1939, **144,** 113-114.
96. Fischer (F. G.), Bottgen (J.) & Lehmann (H.). — Uber die thymopolynucleitidase. *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, 1941, **271,** 246-264.
97. Fletcher (W.), Gulland (J. M.) & Jordan (D. O.). — The constitution of yeast ribonucleic acid. *J. Chem. Soc.*, 1944, 33-39.
98. Furgason (W. H.). — The significant cytostomal pattern of the *Glaucoma-Colpidium* group and a proposed new genus

and species Tetrahymena geleii. *Arch. f. Protist.*, 1940, **94,** 224-266.

99. Gagianut (B.). — Die Wirkung von adenin und Urazil auf das Wachstum von B. coli commune. *Experientia,* 1945, **2,** 109-110.

100. Gates (R. R.). — Nucleoli and related nuclear structures. *Bot. Rev.*, 1942, **8,** 337-409.

101. Gulland (J. M.), Jordan (D. O.) & Taylor (H. F.). — Electrometric titration of the desoxypentose nucleic acid. *J. Chem. Soc.*, 1947, 1131-1141.

102. Gulland (J. M.), Barkerg (R.) & Jordan (D. O.). — The chemistry of the nucleic acids and nucleo-proteins. *Ann. Rev. Biochem.*, 1945, **14,** 175-206.

103. Grégoire (J.). — Les acides ribonucléiques. *Act. Sci. Ind.* (Hermann), 1945, **977,** 127 p.

104. Hammarsten (O.). — Zur Kenntnis der Nucleoprotein. *Zeitschr. f. phys. Chem.*, 1894, **19,** 19-37.

105. Harding (J. F.). — Quantitative studies on the Ciliate *Glaucoma. J. Exp. Biol.*, 1937, **14,** 422-431.

106. Henriques (O. M.). — Technique de la numération des bactéries. *C. R. Soc. Biol.*, 1923, **88,** 819-820.

107. Herlant (M.). — Localisation des hormones gonadotropes au niveau de l'hypophyse antérieure. *Arch. Biol.*, 1943, **54,** 225-357.

108. Heyroth (F.) & Loofbourow (J.). — *J. Am. Chem. Soc.*, 1931, **53,** 34-41.

109. Hoagland (C. L.), Laving (I.), Smadel (J. E.) & Rivers (J. M.). - Nucleic acid from Vaccine virus. *J. Exp. Med.*, 1940, **72,** 139-147.

110. Hollaender (A.) & Emsons (C. W.). — *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 1941, **9,** 179.

111. Hook (A. E.), Beard (E.), Taylor (A. R.), Sharp (D. G.) et Beard (J. W.). — $T_2$ bacteriphage of E. coli. *J. Biol. Chem.*, 1946, **165,** 241-258.

112. Hyden (H.). — Protein metabolism in the nerve cell during growth and function. *Acta Phys. Scand.*, 1943, **6,** supp$^t$ 7.

113. Jirovec (O.). — Das Infusorium *Glaucoma piriformis* als Test Objekt in Pharmacologie und Physiologie. *Scheiwz. Zeitschr. f. allg. Path. u. Bakt.*, 1950, **13,** 129-138.

114. Johnson (T. B.) & Coghill (R. D.). — *J. Am. Chem. Soc.*, 1925, **47,** 2838.

115. Jones (W.). — Nucleic acids 1920 (Longmans, Greend and C$^o$, London), 150 p.

116. Jorpes (E.). — Pancreas nucleinsäure. *Biochem. Zeitschr.*, 1924, **151,** 227-245.

117. Jorpes (E.). — Pancreas nucleinsaüre. *Acta Med. Scand.*, 1928, **68,** 503-573.

118. Khouvine (Y.) & Grégoire (J.). — Dosage des acides nucléiques dans les tissus cancéreux et sains. *C. R. Soc. Biol.*, 1945, **139**, 142-144.

119. Kidder (G. W.). — Nutrition of monocellular animal organisms. *Ann. N.-Y. Ac. Sci.*, 1947, **49**, 99-110.

120. Kidder (G. W.) & Dewey (V. C.). — Dietary factors in the utilisation of homocystine. *Proc. Nat. Ac. Sc.*, 1948, **34**, 81-88.

121. Kidder (G. W.), Dewey (Y. C.), Parks (R. F.) & Woodside (G. L.). — Purine metabolism in *Tetrahymena geleii* and its relation to malignant cells in mice. *Science*, 1949, **109**, 511-514.

122. Klein. — *Centralblatt f. Bakt. u. Par.*, 1900, **27**, 834.

123. Knight (C. A.). — The nucleic acid and Carbohydrat of Influenza virus. *J. Exp. Med.*, 1947, **85**, 99-116.

124. Kohler (A.). — Mikrophotographische Untersungen mit Ultraviolleten Licht. *Z. Wiss. Mikroskop.*, 1904, **21**, 129-165.

125. Kunitz (M.). — Ribonuclease isolated from beef pancreas. *Science*, 1939, **90**, 112-113.

126. Lagerstedt (S.). — *Acta. Anatomica*, 1949, **7**, supp$^{t}$ 2.

127. Lasfargues (E.) & Delaunay (A.). — Trephones d'origine microbienne. *Ann. Inst. Past.*, 1947, **73**, 404-407.

128. Lebeau (P.) & Courtois (G.). — Traité de pharmacie chimique, 1947, vol. 4, 4443 p. Masson, édit., Paris.

129. Loofbourow (J. R.), Cook (E. S.) & Stimson (H.). — Chemical nature of proliferation promoting factors from injured cells. *Nature*, 1938, **142**, 573-574.

130. Loofbourow (J. R.), Dwyer (C. M.) & Morgan (M. N.). Intercellular wound hormons from Ultraviolet injured cells. *Stud. Inst. Div. Thom.*, 1938, **2**, 137-153.

130 $^{bis}$. Loring (H. S.). — Nucleic acid from tobacco mosaic virus. *J. Biol., Chem.*, 1939, **130**, 251-258.

131. Lwoff (A.). — Inf. exp. à *Glaucoma piriformis* chez *Galleria mellonella*. *C. R. Ac. Sc.*, 1924, **178**, 1106-1108.

132. Lwoff (A.). — Pouvoir de synthèse d'un Protiste hétérotrophe : *Glaucoma piriformis*. *C. R. Soc. Biol.*, 1924, **91**, 34.

133. Lwoff (A.). — Influence des extraits totaux de différents organes sur la culture de *Glaucoma piriformis*. *C. R. Soc. Biol.*, 1925, **93**, 1352-1354.

134. Lwoff (A.). — Recherches biochimiques sur la nutrition des Protozoaires. Monographie de l'Institut Pasteur, 1932, 158 p. Masson, édit., Paris.

135. Lwoff (A.). — Les facteurs de croissance pour les microorganismes. *Ann. Inst. Pasteur*, 1938, **61**, 580-617.

136. Lwoff (A.) & Lwoff (M.). — Aneurine : facteur de crois-

sance pour le Cilié *Glaucoma piriformis*. *C. R. Soc. Biol.*, 1937, **126,** 644-646.

137. Lwoff (A.) & Lwoff (M.). — Spécificité de l'aneurine, facteur de croissance pour le Cilié *Glaucoma piriformis*. *C. R. Soc. Biol.*, 1938, **127,** 1170-1172.

138. Levene (P. A.), Mikeska (L. A.) & Mori (T.). — On the Carbohydrate of thymonucleic acid. *J. Biol. Chem.*, 1930, **85,** 785-787.

139. Mc Carty (M.) & Avery (O. T.). — Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of Pneumococcal types. *J. Exp. Med.*, 1946, **83,** 89-96 et 97-104.

140. Malmgren (B.) & Hyden (H.). — Nucleotide metabolism of bacteria and the bacterial nucleus. *Nature*, 1947, **159,** 577-578.

141. Manninger (R.) & Nograni (A.). — Uber induzierte Mutationserscheinungen an Milzbrand und Kartoffelbazillen. *Exper.*, 1948, **4,** 276-277.

142. Maupas (E.). — Contribution à l'étude morphologique et anatomique des Infusoires Ciliés. *Arch. Zool. Exp. et Gen.*, 1883, **1,** 2e série, 427-664.

143. Maupas (E.). — Multiplication des Ciliés. *Arch. Zool. Exp. et Gen.*, 1888, **6,** 165-275.

144. Mazia (D.). — *Growth*, 1949, **13,** 5.

145. Mejbaum (B.). — Estimation of small amounts of pentose, especialy in derivatives of adenylic acid. *Zeitschr. f. phys. Chem.*, 1939, **258,** 117-120.

146. Milkovitch (G.). — Action du sérum humain sur *Glaucoma piriformis*. *C. R. Soc. Biol.*, 1929, **100,** 417-420.

147. Mirko Beljansky & Machebœuf (M.). — A propos du microdosage du ribose des acides nucléiques par la méthode de Mejbaum. *C. R. Soc. Biol.*, 1949, **143,** 174-176.

148. Mirsky (A. E.). — Chromosomes and nucleoproteins. Adv. in *Enzymology*, 1943, **3,** 1-34.

149. Mirsky (A. E.) & Pollister (A. W.). — Nucleoproteins of cell nuclei. *Proc. Nat. Ac. Sc.*, 1942, **28,** 344-352.

150. Mirsky (A. E.) & Pollister (A. W.). — Chromosomin. *J. Gen. Phys.*, 1946, **30,** 117-148.

151. Mirsky (A. E.) & Ris (H.). — The chemical composition of isolated chromosome. *J. Gen. Phys.*, 1947, **31,** 7-18.

152. Mirsky (A. E.) & Ris (H.). — Variable and constant components of chromosoms. *Nature*, 1949, **163,** 666-667.

153. Mitra (B. N.). — Nucleic acid of proteins of Vibrio cholera and related organisms. *Indian J. Med. Res.*, 1936, **24,** 1-4.

154. Molho (D.) & Lacroix (L.). — Effets antibiotiques de quelques quinones. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1949, **31,** 1341-1347.

155. Moyer (A. W.) & Du Vigneaud (V.). — The structural specifi-

city of cholin and betain in transmethylation. *J. Biol. Chem.*, 1942, **143,** 373-382.

156. Needham (J.). — Biochem. and Morphogenesis (Camb. U. P.), 1950.

157. Needham (J.) & Needham (D. M.). — Phosphorus metabolism in embryonic life; invertebrate eggs. *J. Exp. Biol.*, 1930, **7,** 317-348.

158. Nowikoff (M.). — Uber die Wirkung des Schildrüsenextrakts und einige anderer Organstoffe auf Ciliaten. *Arch. f. Protist.*, 1908, **11,** 309-325.

159. Partridge (S. M.). — Anilin hydrogen phtalate as a spraying reagent for chromatography of sugars. *Nature*, 1949, **164,** 443.

160. Piéchaud (M.). — Coloration des corps chromatiques des Entérobactériacés par un colorant neutre sans hydrolyse préalable. *Ann. Inst. Past.*, 1949, **76,** 66-67.

161. Piekarsky (G.). — Cytologische Untersuchungen an paratyphus u. Coli-Bakterien. *Arch. Mikrob.*, 1937, **8,** 426-439.

161 bis. Piekarsky (G.). — Haben Bakterien einen Zellkern ? Zur Definition des Zellkerns. *Naturwissenschaften* 1950, **37,** 201-205.

162. Pierce (J. G.) & Loring (H. S.). — Purine and pyrimidine antagonism in the pyrimidin deficient *Neurospora* mutant n° 1.298. *Feder. Proc.*, 1947, **6,** 514-516.

163. Pollister (A. W.) & Ris (H.). — Nucleoprotein determination in cytological preparations. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 1947, **12,** 147-154.

164. Prévot (A. R.), Taffanel (J.) & Raynaud (M.). — Bouillon de placenta. *Ann. Inst. Past.*, 1944, **70,** 181-182.

165. Rebadek. — Quant. estimation of nucleic acid in organs of normal and cancerous animals. *Ark. kemi. Min. Geol.*, 1947, **35,** 1-13.

166. Riddle (O.) & Torrey. — *Proc. Am. Soc. Zoo. Anat. Rec.*, 1923, **24,** 396.

167. Ris (H.). — The composition of chromosoms during mitosis and meiosis. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 1947, **12,** 158-160.

168. Ris (H.) & Fox (J. P.). — The cytology of Rickettsia. *J. Exp. Med.*, 1949, **89,** 681.

169. Ris (H.) & Mirsky (A. E.). — Quantitative cytochemical determination of desoxyribonucleic acid with Feulgen nucleal reaction. *J. Gen. Phys.*, 1948, **33,** 125-146.

170. Robinow (C. F.) *in* Dubos (R. J.). — The bacterial cell, 1945, 459 p. Harvard U. P., Cambridge.

171. Robinow (C. F.). — A study of the nuclear apparatus of bacteria. *Proc. Roy. Soc. London*, 1942, **131,** B, 299-324.

172. Ronchèse (A. M.). — La numération des bactéries. Thèse de Pharmacie, Paris, 27 mai 1943.

173. Rose (W. C.). — Nutritive significance of amino acids. *Physiol. Rev.*, 1938, **18,** 109-136.

174. Rose (W. C.) & Rice (E. E.). — Significance of amino acids in canine nutrition. *Science*, 1939, **90,** 186-187.

175. Schneider (W. C.). — Phosphorus compounds in animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 1945, **161,** 293-303.

176. Schneider (W. C.). — Nucleic acids in normal and neoplastic tissues. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 1947, **12,** 168-177.

177. Schmidt (G.), Hecht (L.) & Thannhauser (S.). — Nucleic acid during the development of the sea-urchin egg. *J. Gen. Phys.*, 1948, **31,** 203-257.

178. Schmidt (G.) & Thannauser (S. J.). — Method for the determination of nucleic acids. *J. Biol. Chem.*, 1945, **161,** 83-84.

179. Schunway. — Effects of thyroid on division rate of Paramocium. *J. Exp. Zool.*, 1914, **17,** 297.

180. Schunway. — The effect of thyroid diet upon Paramecium. *J. Exp. Zool.*, 1917, **22,** 529.

181. Sevag (M. G.), Smolens (J.) & Lackman (D. B.). — The nucleic acid content and distribution in Streptococcus pyogenes. *J. Biol. Chem.*, 1940, **134,** 523-529.

182. Skoog (F.). — Chemical control of growth and organ formation in plant tissues. *Ann. Biol.*, 1950, **26,** 545-557.

183. Spiegelman (S.) & Kamen (M. D.). — Relation between nucleic acid and protein synthesis. *Cold Spring Harb. Quant. Biol.*, 1947, **12,** 211-227.

184. Stadler (L. J.) & Uber (F.). — *Genetic*, 1942, **27,** 84.

185. Stahl (W. H.), Pennell (R. B.) & Huddleson (I. F.). Protein nucleates of species of the genus Brucella. *J. Mich. Agr. Expt. Sta. Tech. Bull.*, 1939, **108,** 3-14; in *Chem. Abstr.*, 1940, **34,** 3302.

186. Stedman (E.) & Stedman (E.). — The chemical nature and function of the component of cell nuclei. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 1947, **12,** 224-234.

187. Steinbach (H. B.) & Moot (F.). — Localisation of adenylpyrophosphatase in cytoplasmic granules. *J. Cellular comp. Physiol.*, **26,** 175-183.

188. Stokstad (E. L. R.), Hoffmann (C. E.), Regan (M. A.), Fordham (D.) & Jukes (T. H.). — Factor essential for *Tetrahymena geleii*. *Arch. Biochem.*, 1949, **20,** 75-82.

189. Stowell. — Discussion sur la communication de Schneider. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, 1947, **12,** 168-177.

190. Stubel (H.). — *Arch. Ges. Phys.*, 1920, **185,** 74.

191. Taylor (A. R.). — Chemical analysis of the $T_2$ bacteriophage

and its host E. coli (strain B). *J. Biol. Chem.*, 1946, **165**, 271-284.

192. Tennant (R.), Liebow (A. A.) & Stern (K. G.). — Effect of macromolucelar material from chick embryos on growth rate of mouse heart fibroblasts cultures. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1941, **46**, 18-21.

193. Tennant (R.), Liebow (A. A.) & Stern (K. G.). — The stimulating action of nucleic acids upon mouse heart fibroblasts. *Cancer research.*, 1942, **2**, 218-222.

194. Toennies (G.), Bennet (M.) & Medes (G.). — Ability of homocystine to support rat growth in absence of dietary choline and methionine. *Growth*, 1943, **7**, 251-252.

195. Tovarnickij (V. I.), Krontovskaja (M. K.) & Ceborkina (N. V.). — Chemical composition of Rickettsia prowaseki. *Nature*, 1946, **158**, 912.

196. Treillard (M.) & Lwoff (A.). — Infusoire parasite de la cavité générale des larves de Chironomes. Sa sexualité. *C. R. Ac. Sc.*, 1924, **178**, 1761-1764.

197. Tulasne (R.) & Minck (R.). — Mise en évidence des noyaux des cocci par la ribonucléase. *C. R. Soc. Biol.*, 1947, **141**, 1255-1256.

198. Tulasne (R.) & Vendrely (R.). — Mise en évidence des noyaux bactériens par la ribonucléase. *C. R. Soc. Biol.*, 1947, **141**, 674-676.

199. Ugata (T.). — Biochemal studies on the growth of Paramecium. *J. Biochem.*, 1914, **6**, 417-450.

200. Van den Berghe (L.). — Acides pentose-nucléiques dans les plasmocytes et histiocytes de la moelle osseuse. *Acta Biol., Belg.*, 1942, **2**, 390-395.

201. Vendrely (R.). — Les deux acides nucléiques bactériens et leur signification. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, sous presse.

202. Vendrely (R.). — Localisation et rôle cytologique des acides nucléiques. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1950, **32**, 427-442.

203. Vendrely (R.) & Lehoult (Y.). — Les acides nucléiques de la cellule bactérienne. *C. R. Ac. Sc.*, 1946, **222**, 1357-1359.

204. Vendrely (R.) & Randavel (C.). — Histochimie des acides ribonucléiques par hydrolyse chlorhydrique. *C. R. Soc. Biol.*, 1949, **143**, 294-295.

205. Vendrely (C.) & Vendrely (R.). — Sur le comportement des nucléoprotéides des acides nucléiques isolés, à l'égard de certains colorants histologiques. *C. R. Soc. Biol.*, 1949, **143**, 1388-1389.

206. Vendrely (R.) & Vendrely (C.). — La teneur du noyau cellulaire en acide désoxyribonucléique à travers les organes, les individus et les espèces animales; études particulières des Mammifères. *Experientia*, 1949, **5**, 327-329.

207. Du Vigneaud (V.), Chandler (J. P.), Noyer (A. W.) &

Keppel (D. M.). — The effect of choline on the ability of homocystine to replace methionine in the diet. *J. Biol. Chem.*, 1939, **131**, 57-76.

208. Villee (C. A.), Lowens (M.), Gordom (M.), Leonard (E.) & Rich (A.). — *J. Cell. Comp. Phys.*, 1949, **33**, 93.

209. Vischer (E.), Zamenhof (S.), Chargaff (E.). — The desoxypentose nucleic acid of avian tubercle bacilli and yeast. *J. Biol., Chem.*, 1949, **177**, 429.

210. Vles (F.). — Propriétés optiques des suspensions biologiques et opacimétrie bactérienne. *Arch. Phys. Biol.*, 1921, **1**, 188-299.

211. Weil (A. J.) & Binder. — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1947, **66**, 349.

212. Wiame (J. M.). — Basophilie et métabolisme du phosphore chez la levure. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1946, **28**, 552-556.

213. Woodruff (L. L.) & Swingle (W. W.). — The effects of thyroid and some other endocrins products in Paramecium. *Am. J. Phys.*, 1924, **69**, 21-34.

214. Zamenhof (S.) & Chargaff (E.). — Studies on the desoxypentose nuclease of yeast and its specific cellular regulation. *J. Biol. Chem.*, 1949, **180**, 727-740.

215. Zamenhof (S.) & Chargaff (E.). — Diversity and native state of desoxypentose nucleic acids. *J. Biol. Chem.*, 1950, **186**, 207-219.

216. Zotta (G.). — Emploi de la substance cérébrale comme milieu de culture pour *Leptomonas pyrrhocoris*. *C. R. Soc. Biol.*, 1923, **88**, 281-283.

217. Zotta (G.). — Culture du *Leptomonas pyrrhocoris* en milieu d'organe stérile. *C. R. Soc. Biol.*, 1923, **88**, 283-285.

# DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITION DONNÉE PAR LA FACULTÉ :

## DIFFÉRENCIATION CELLULAIRE

Vu, bon à imprimer :
*Le Président,*
M. AVEL.

Vu et approuvé :
*Le Doyen,*
G. BRUS.

Vu et permis d'imprimer :
Bordeaux, le 11 Juin 1951.
*Le Recteur,*
E. DELAGE